Taschenbuch
der
mikroskopischen Technik

von

A. Böhm und A. Oppel.



Taschenbuch

der

mikroskopischen Technik.

Von

Alexander Böhm und Albert Oppel,
Assistenten für Histologie an der anatomischen Anstalt in München.



München.
Druck und Verlag von R. Oldenbourg.
1890.

Inhalt.

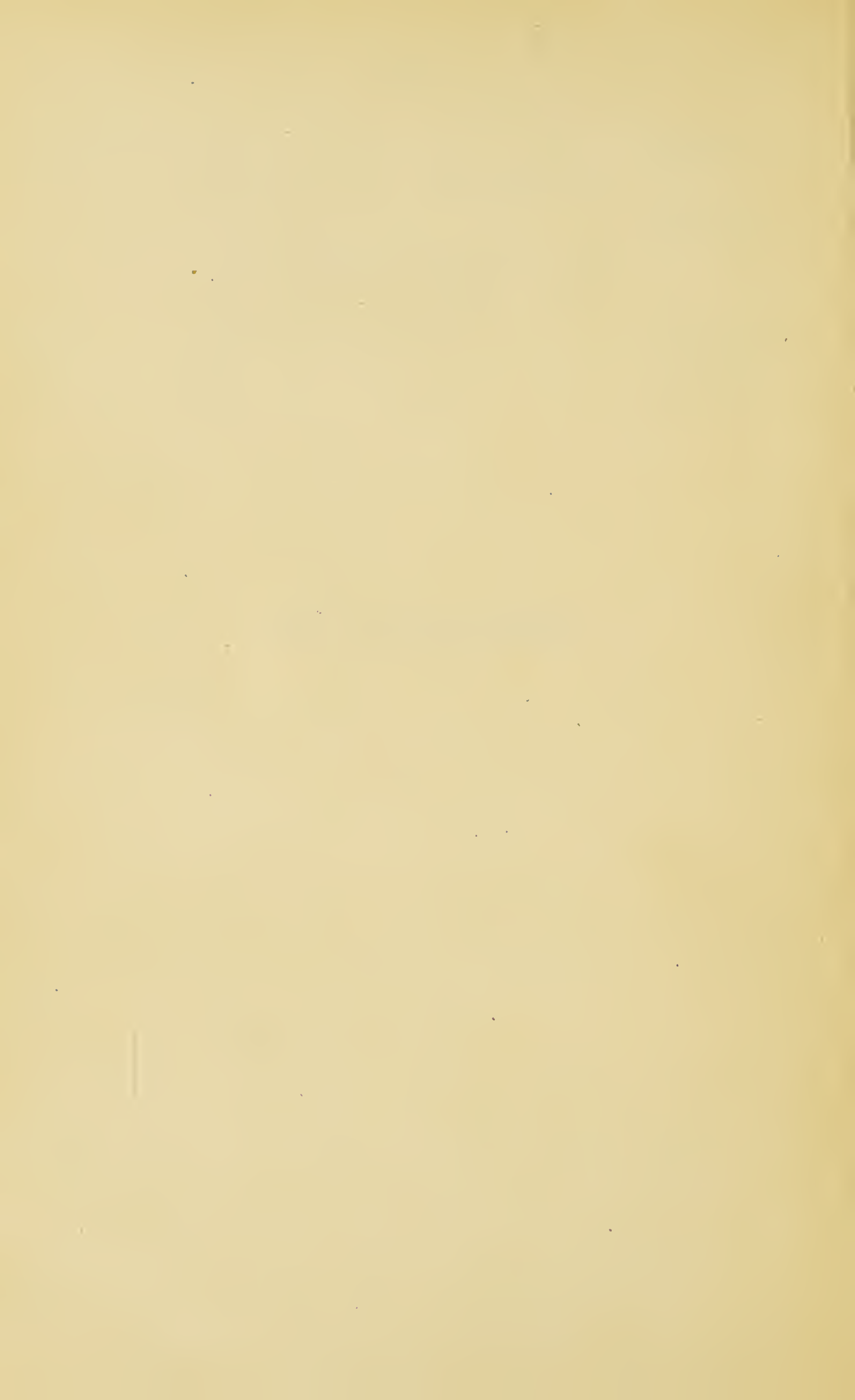
Allgemeiner Teil.

I. Abschnitt. Das Mikroskop.

II. Abschnitt. Die Anfertigung des Präparates.

Specieller Teil.

Allgemeiner Teil.



I. Abschnitt.

Das Mikroskop.

Zur mikroskopischen Untersuchung ist es nötig, den Bau des Mikroskops und den Zweck der einzelnen Teile desselben kennen zu lernen. Damit verknüpft ist die Frage nach Art und Bedingungen des Zusammenwirkens dieser Teile. Hat man sich damit vertraut gemacht, so ist die Benutzung des Mikroskops wesentlich erleichtert. Doch mufs die Benutzung selbst vielfach geübt werden, ehe es gelingt, in kurzer Zeit ein Bild deutlich zu sehen.

1. Kapitel.

Die Bestandteile des Mikroskops.

[§ 1] Das Mikroskop ist ein zusammengesetztes Instrument, wechselnd von einfachem bis zu sehr kompliziertem Bau. Instrumente letzterer Art sind nur für feinste Untersuchungen nötig. Der folgenden Beschreibung liegt ein für tagtägliche Untersuchungen brauchbares nicht zu kompliziertes Instrument zu Grunde.

[§ 2] Es gibt auch sogenannte einfache Mikroskope. Unter diesem Namen werden verstanden Lupen (Convexlinsen). Diese befinden sich gewöhnlich an einem Stativ. Da sie die Hände des Beobachters frei lassen, auch das betrachtete Bild nicht umkehren, so können sie als Präpariermikroskope verwendet werden. Die einfachen Mikroskope sind nur geeignet für schwache Vergröfserungen.

[§ 3] Die einzelnen Teile des Mikroskops sind befestigt an einem **Stativ.** Dieses besteht aus einem **Fufs,** welcher schwer und feststehend meist von Hufeisenform ist. Senkrecht auf dem Fufs steht die **Säule,** welche die übrigen Teile des Mikroskops trägt. Die letzteren befinden sich in drei Etagen übereinander an der Säule befestigt, sie sind von unten nach oben: der Spiegel, der Objekttisch und der Tubus.

[§ 4] Der **Spiegel** hat meist zwei verschieden gestaltete spiegelnde Seiten, eine plane und eine konkave. Derselbe mufs nach allen Seiten frei beweglich sein.

[§ 5] Der **Tisch** hat in der Mitte ein Loch, um die vom Spiegel kommenden Lichtstrahlen durchfallen zu lassen, damit sie das auf dem Tisch über dem Loch liegende Objekt beleuchten. Dieses Loch kann durch eine am Tisch angebrachte Vorrichtung gröfser oder kleiner gemacht werden. Diese Vorrichtung wird **Blende** genannt. Die häufigsten Blenden sind die Scheibenblende und die Cylinderblende. Erstere ist leichter zu handhaben.

[§ 6] Die Scheibenblende ist eine an der Unterseite des Tisches befestigte Scheibe, welche um ihre Mitte drehbar ist. Dieselbe ist so angebracht, dafs ihr Rand, wenn er undurchbohrt wäre, das Loch des Tisches so verdecken würde, dafs keine Lichtstrahlen durchfallen könnten. Dieser Rand besitzt jedoch eine Anzahl verschieden weiter Löcher, welche durch Drehung der Scheibe unter dem Loch des Tisches vorbeibewegt werden können, und so nach Art eines Diaphragmas das Loch im Tisch weiter oder enger zu machen gestatten. In einer bestimmten Lage wird die Scheibe fixiert durch eine Feder, welche an ihrer Spitze einen Stift trägt, der jedesmal, wenn gerade eines der Löcher der Scheibe unter dem Centrum des Loches im Tische steht, in eine kleine Vertiefung einschnappt. Durch leichten Druck kann die Scheibe weiter bewegt werden.

[§ 7] Die Cylinderblende besteht aus einer am Tisch unter dem Loch befindlichen Hülse, in welche ein Cylinder eingeschoben werden kann. In diesen Cylinder können eine Reihe von verschieden weiten Diaphragmen eingesetzt werden, welche dem Mikroskop beigegeben sind.

[§ 8] Über dem Tisch befindet sich der **Tubus.** Derselbe, eine Röhre, steckt in einer durch einen Arm an der Säule befestigten **Hülse.** Er kann durch die Hand in der Hülse verschoben und so höher oder tiefer gestellt werden.

Bei den meisten neuerdings angefertigten Instrumenten besteht der Tubus nicht aus einer Röhre, sondern aus zwei solchen, welche in einander geschoben oder ausgezogen den Tubus verkürzen oder verlängern. Das beste Sehen erfolgt bei einer vom Fabrikanten angegebenen Tubuslänge. Jedoch gestattet der ausziehbare Tubus, die Bildgröfse zu verändern, indem bei ausgezogenem Tubus die Vergröfserung eine stärkere ist, als bei eingeschobenem, was für die Wahl der Vergröfserung namentlich beim Zeichnen von Bedeutung ist.

Die beiden Enden des Tubus tragen die Linsen, das obere, dem Auge nahe Ende, das **Okular,** das untere, dem Objekt nächstliegende Ende, das **Objektiv.**

[§ 9] Das **Okular** besteht aus einer in den Tubus leicht

einschiebbaren Röhre, welche an ihren beiden Enden Linsen und in ihrem Innern eine Blende trägt. Die Linse am obern, dem Auge näher befindlichen Ende nennt man die Okularlinse, die am untern Ende die Kollektivlinse, letzteres aus später zu sehenden Gründen.

[§ **10**] Das **Objektiv** ist aus mehreren Linsen zusammengesetzt, welche nicht auseinandergenommen werden sollen. Die dem Objekt nächstliegende Linse nennt man die Frontlinse. Um untersuchen zu können, sind mindestens zwei Objektive unumgänglich notwendig, ein schwächeres und ein stärkeres.

[§ **11**] Zum mikroskopischen Sehen ist es notwendig, den Tubus mit den Linsen dem auf dem Objekttisch liegenden Objekt annähern oder von demselben entfernen zu können.

In grober Weise geschieht dies dadurch, dafs der Tubus in der Hülse verschieblich ist.

[§ **12**] Eine sehr allmähliche und gleichmäfsige Bewegung bewirkt eine **Mikrometerschraube,** welche sich in der Säule befindet. Hier wird nicht der Tubus allein bewegt, sondern der ihn tragende Arm, bei manchen Stativen mit einem Teil der Säule.

In der Säule befindet sich eine starke Feder, welche den den Tubus tragenden Teil hebt, dieselbe wirkt der Mikrometerschraube entgegen. Schraubt man im Sinne des Uhrzeigers, so wird die Feder komprimiert und damit der Tubus gesenkt, dreht man im entgegengesetzten Sinne, so wird der Tubus durch die Feder gehoben. So sind die Verhältnisse z. B. bei den von Leitz angefertigten Stativen, welche die Mikrometerschraube am oberen Ende der Säule tragen.

Bei manchen andern Firmen befindet sich die Mikrometerschraube am untern Ende der Säule.

[§ **13**] Die bisher angegebenen Bestandteile des Mikroskops sind die durchaus notwendigen.

Dieselben finden sich z. B. bei
Leitz in Wetzlar — Stativ Nr. V. III 17 IV. 19 — V. 23 (Kat. 1890)
mit den Objectiven 3 und 7;
Zeifs in Jena — Stativ VI und VII
mit den Objektiven C und E;
Seibert in Wetzlar — Stativ 5. 6. 7.
mit den Objektiven III und V.

Eine Reihe von Vorrichtungen finden sich an teuereren Mikroskopen. Viele derselben sind für feinere Untersuchungen wünschenswert oder notwendig, zum Teil dienen sie der Bequemlichkeit und erleichtern so die Arbeit.

[§ 14] Das Stativ kann um mehrere Achsen bewegt werden. Einmal kann das ganze Stativ umgelegt werden (Bewegung um die horizontale Achse).

[§ 15] Gewöhnlich ist damit eine Drehung um die optische Achse verbunden, die z. B. für Untersuchungen im polarisierten Licht von Wert ist. Solche Stative sind meist gröfser und stärker gebaut.

[§ 16] Sie haben zur groben Einstellung Zahn und Trieb. Diese Vorrichtung, welche die Verschiebung des Tubus erleichtert, besteht aus einer am Tubus befestigten Zahnreihe, in welche ein an dem den Tubus tragenden Arm befindliches Zahnrad eingreift. Durch Drehung des letztern wird der Tubus gehoben oder gesenkt.

[§ 17] Als Revolver zum raschen Wechseln der Objektive dient meist eine Scheibe, welche mit Löchern versehen ist, in denen sich Gewinde zum Anschrauben der Objektive befinden. Die Scheibe wird dann unten an den Tubus angeschraubt und ist dort so beweglich, dafs, indem man sie verschiebt, bald das eine, bald das andere der Objektive unter den Tubus gebracht werden kann. Ein Revolver für drei Objektive genügt für die meisten Ansprüche.

[§ 18] Am Tisch finden sich, meist auch den kleinen Stativen beigegeben, Klammern, welche gestatten, den Objektträger in einer bestimmten Lage zu fixieren. Eine solche Klammer besteht aus einem Stift, an dem eine Feder befestigt ist. Im Tisch finden sich Löcher, in welche die Stifte eingesteckt werden können, die Feder kommt aufs Objekt zu liegen und wird durch Druck auf den Stift fixiert. Die Klammern sind von Wert, wenn z. B. ein Objekt gezeichnet werden soll, um ein Verschobenwerden desselben zu verhindern.

[§ 19] Eine Blende, welche leicht zu handhaben ist und zugleich den Vorteil bietet, nicht an die Zahl der beigegebenen verschiedenen Scheiben gebunden zu sein, ist die Irisblende. Die Öffnung derselben kann durch übereinander greifende gekrümmte Blechplatten, die mittels eines Handgriffs bewegt werden, ganz allmählich weiter oder enger gemacht werden.

[§ 20] Heizbarer Objekttisch siehe § 301.

[§ 21] Bewegung des Tisches mit dem Objekt bei ruhig stehendem Tubus kann bewirkt werden durch Drehung der Tischplatte, dabei bleibt das Objekt centriert.

[§ 22] Bei vielen Stativen gestatten zwei seitlich angebrachte Schrauben, den Objekttisch mit Objekt ganz allmählich zu verschieben; damit kann bei starken Vergröfserungen eine Verschiebung z. B. zur Centrierung eines Punktes ausgeführt werden, welche mit der Hand nicht mehr möglich wäre.

[§ 23] Der bewegliche Objekttisch gestattet ein regelmäfsiges Bewegen des Objekts durch Schrauben in den beiden aufeinander senkrecht stehenden Richtungen der Tischebene. Diese Vorrichtung ist von Vorteil besonders für systematische Durchmusterung von Präparaten.

[§ 24] Die Deutlichkeit des Bildes wird wesentlich bedingt durch das **Objektiv.** Deshalb wurden eine Reihe von stärkeren und schwächeren Objektiven konstruiert. Dieselben werden von den verschiedenen Fabriken in verschiedener Weise benannt: Leitz 1—9, Zeiſs A—F. 1 und A sind die schwächsten Objektive, von da steigt die Schärfe bis zu 9 und F.

Eine rationelle Art, dieselben zu benennen, ist nach der Brennweite. Dies ist bis jetzt erst eingeführt für die Ölimmersionen (siehe § 28).

[§ 25] Bei stärkeren Objektiven befindet sich bisweilen eine Korrektion. Die Korrektion gestattet die Fehler, welche durch verschiedene Dicke des Deckglases hervorgerufen werden, auszugleichen. Voraussetzung ist hiebei, daſs man die Deckglasdicke kennt, andernfalls ist für den weniger Geübten ein festes System, an welchem vom Fabrikanten eine mittlere Korrektion ausgeführt ist, vorzuziehen.

[§ 26] Zur Bestimmung der Deckglasdicke gibt es Instrumente, sogenannte **Deckglastaster.** Die Messung geschieht durch eine Zange, welche das Deckgläschen faſst. Die Dicke wird an einem Zeiger abgelesen. Dieser Apparat kann jedoch selbstverständlich nur vor Anfertigung des mikroskopischen Präparats Verwendung finden.

[§ 27] Als sogenannte **Immersionssysteme** (Tauchsysteme) werden die stärksten Objektive angefertigt. Die Bedeutung derselben beruht darauf, daſs hier nicht, wie bei Trockensystemen, die Lichtstrahlen auf ihrem Wege vom Deckglase zur Linse die dazwischen liegende Luft zu passieren haben. Hiebei entstehen nämlich durch Ablenkung der Lichtstrahlen Fehler, welche ausgeglichen werden könnten, wenn Deckglas und Linse zusammen aus einem Stück bestünden. Man hilft dadurch, daſs man einen Tropfen Flüssigkeit zwischen Linse und Deckglas einschaltet, der ein Lichtbrechungsvermögen besitzt, welches dem des Glases nahe steht. Nimmt man einen Tropfen Wasser, so wird dies annähernd erreicht, man nennt solche Objektive Wasserimmersion.

[§ 28] Es ist gelungen, Ölsorten herzustellen, deren Lichtbrechungsvermögen dem des Glases fast gleichkommt. Systeme, welche hierfür konstruiert sind, nennt man Öl- oder homogene Immersionssysteme.

[§ 29] Besonders sorgfältig gearbeitete und unter Benützung neuerer Glasarten gefertigte, aber auch teurere Systeme liefern einige Firmen unter dem Namen Apochromaten.

[§ 30] Die **Okulare** werden in verschiedenen Stärken angefertigt und mit Zahlen von Zeiss, Leitz und Seibert benannt, von den schwächeren zu den stärkeren ansteigend.

Die gleichen Nummern entsprechen jedoch bei verschiedenen Firmen nicht gleichstarken Okularen.

[§ 31] Zu den Apochromaten werden auch eine Reihe vorzüglicher schwächerer und stärkerer Okulare geliefert.

[§ 32] Die **Vergröfserung** richtet sich nicht allein nach den Objektiven, vielmehr auch hauptsächlich nach der Stärke der angewandten Okulare. Mit in Betracht kommt die Tubuslänge. Es empfiehlt sich daher, wenn nicht vom Fabrikanten eine Vergröfserungstabelle für die Systeme bei bestimmtem Okular und bestimmter Tubuslänge beigegeben ist, dieselbe mittels eines Ocularmikrometers und eines Objektivmikrometers oder durch Zeichnen des Objektivmikrometers in der in § 55 und 56 angegebenen Weise zu bestimmen.

[§ 33] Mit dem Gebrauch stärkerer Systeme genügt die Lichtquelle, welche der Spiegel bietet, nicht mehr. Es wurden Apparate angegeben, welche die Lichtstärke vermehren sollen — Condensor.

[§ 34] Der beste derartige und jetzt noch allein zu empfehlende Apparat ist der **Abbe'sche Beleuchtungsapparat,** welcher für feinere Untersuchungen unentbehrlich ist.

Derselbe wird unter dem Objekttisch angebracht. Er ist aus mehreren übereinander befindlichen Linsen zusammengesetzt, welche die vom Spiegel auffallenden Lichtstrahlen auf das Objekt vereinigen.

Eine Reihe von Hilfsapparaten, welche für bestimmte Zwecke unentbehrlich sind, bleiben noch anzuführen.

[§ 35] Der leitende Gedanke bei Konstruktion der verschiedenen Zeichenapparate war stets der, dafs die Lichtstrahlen vom mikroskopischen Bild und von der Zeichenfläche mit der Bleistiftspitze so ins Auge fallen müssen, dafs sie sich decken. Dies geschieht dadurch, dafs von einem der beiden die Strahlen direkt ins Auge fallen, die vom andern indem sie durch spiegelnde Flächen ins Auge abgelenkt werden.

Ob als spiegelnde Flächen Spiegel oder total reflektierende Prismenflächen verwandt werden, ist unwesentlich. Zwei Hauptgruppen können unterschieden werden: bei der einen wird das mikroskopische Bild direkt gesehen und die Zeichenfläche durch spiegelnde Fläche dem Auge sichtbar gemacht; dieser Apparat wurde von Abbe angegeben. Im zweiten Fall sieht das Auge direkt auf das Papier, und das mikroskopische Bild wird ihm durch die spiegelnden Flächen zugeführt. Oberhäuserscher Zeichenapparat.

In beiden Fällen geschieht die Ablenkung durch einen Spiegel, (nehmen wir der Einfachheit halber an, es würden überall Spiegel und keine Prismen verwendet) der unter einem Winkel von 45° über der Tischebene steht. Ihm gegenüber mit der spiegelnden Seite dem ersten zugekehrt, und parallel demselben

steht ein zweiter Spiegel, in diesen sieht das Auge. Die Strahlen gelangen so vom einen Objekt in den ersten Spiegel, von da in den zweiten, von da ins Auge. Der zweite Spiegel hat ein Loch, durch dieses dringen Lichtstrahlen von dem darunter liegenden zweiten Objekt direkt ins Auge.

[§ 36] Zur vollständigen Ausrüstung eines Mikroskops gehört auch der Polarisationsapparat, bestehend aus einem Polarisator, welcher unter dem Objekttisch befestigt wird und aus einem Analysator, der auf das Okular resp. das obere Ende des Tubus aufgesetzt wird. Derselbe, wenn er auch nicht so häufig für histologische wie für mineralogische Untersuchungen gebraucht wird, kann meist auch an den kleinen Stativen angebracht werden. Wer mit demselben arbeiten will, mufs seinen Bau eingehend kennen lernen.

[§ 37] Ein Mikroskop, das allen Ansprüchen genügen soll, mufs die Möglichkeit bieten, den Abbe'schen Beleuchtungsapparat anzubringen. Es ist dann möglich, zunächst ein Stativ mit dem Unentbehrlichsten anzuschaffen und später den Abbe'schen Beleuchtungsapparat und ein Immersionssystem nachzubestellen. Diesen Ansprüchen würden die in § 13 angeführten Stative nicht entsprechen, wohl aber z. B. folgende:

Leitz Stat. III. 14 Stat. II
Zeifs Stat. IV. und V
Seibert Stat. 2, 3 und 4.

[§ 38] Aufser diesen werden von den obigen Firmen noch gröfsere Stative angefertigt, z. B.: Leitz I,
Zeifs I und II.
Seibert 1.

2. Kapitel.

Ueber das mikroskopische Sehen.

[§ 39] Im folgenden sollen nicht die Gesetze der Dioptrik vorgeführt werden, das bleibt dem Studium eines Lehrbuches der Physik überlassen. Vielmehr wird nur dasjenige geboten werden, was nötig für den Mikroskopierenden ist, um sein Instrument gebrauchen zu können.

Wenn ein Lichtstrahl aus der Luft in Glas geht und wenn er auf die Fläche des Glases schräg auffällt, so ändert er an der Uebergangsstelle seine Richtung, er wird gebrochen. Eine an der Uebergangsstelle senkrecht zur Glasfläche errichtete Linie nennt man Einfallslot. Der Lichtstrahl wird so gebrochen, dass der Winkel, welchen er zum Einfallslot bildet, kleiner wird. Er wird zum Einfallslot gebrochen. Geht er wieder hinaus in Luft, so wird er vom Einfallslot weg gebrochen und zwar eben

soviel weg, wie beim Eintritt zu. Handelt es sich um eine Glastafel, deren Seiten parallel sind, so wird demnach auch der austretende Strahl parallel dem einfallenden verlaufen. Die Ablenkung ist bei denselben Medien stets konstant, bei verschiedenen z. B. auch verschiedenen Glasarten aber verschieden. Die Grösse der Ablenkung wird durch den Brechungsindex bezeichnet. (Brechungsindex ist gleich dem Verhältnis zwischen dem Sinus des Einfallwinkels und dem Sinus des Brechungswinkels.)

Handelt es sich nicht um eine Glastafel, sondern um ein Prisma oder eine Linse, so läuft der austretende Strahl nicht parallel dem einfallenden (von besonderen Fällen abgesehen). Es vereinigt z. B. eine Convexlinse alle auffallenden Strahlen in einem Punkt, ihrem Brennpunkt.

Diese Eigenschaft der Linsen, die Richtung der Lichtstrahlen zu verändern und in bestimmten Punkten zu vereinigen, führt dazu, dass unter besonderen Umständen auch von Objekten ausgehende Lichtstrahlen wieder zu einem, dem Objekt ähnlichen Bild vereinigt werden. Ein solches Bild nennt man dann ein reelles Bild. Dieses geschieht, wenn das Objekt aufserhalb der Brennweite einer Konvexlinse liegt. Das Bild ist ein umgekehrtes. Gehen die Strahlen von einem Objekt aus, das zwischen einer Konvexlinse und ihrem Brennpunkt liegt, so werden dieselben nicht vereinigt, sie scheinen dann aus der Richtung ihrer Verlängerung herzukommen. Es erscheint dem Auge, als ob sie sich dort in ihrer Verlängerung schneiden, dasselbe sieht daher ein vergrössertes Bild des Objekts. Man nennt ein solches ein virtuelles Bild. Dasselbe ist aufrecht.

Im Mikroskop sind die beiden zuletzt angeführten Gesetze der Dioptrik benutzt, um im Auge ein vergröfsertes Bild des Objekts entstehen zu lassen.

Das Objektiv entwirft ein umgekehrtes reelles Bild des Objekts im Tubus. Dieses Bild wird durch das Okular betrachtet. Die Okularlinse wirkt so, dafs das Auge nicht direkt das vom Objektiv entworfene Bild, sondern ein virtuelles vergröfsertes Bild desselben sieht, das natürlich umgekehrt bleibt.

[§ 40] Man könnte schon damit sehen, aber als Verbesserung ist die Kollektivlinse eingeschaltet. Dieselbe hat den Zweck, das vom Objektiv entworfene Bild in ein kleineres, verbessertes, lichtstärkeres Bild umzuwandeln, welches dann in der oben angegebenen Weise durch die Okularlinse betrachtet wird. Zugleich wird durch die Wirkung der Kollektivlinse das Gesichtsfeld vergröfsert.

[§ 41] Wünscht man besser zu sehen, so ist zuerst nötig, das reelle Bild möglichst grofs und gut zu bekommen durch stärkere Objektive. Weniger nützt, wie sich aus dem obigen ergibt, dieses Bild viel gröfser zu sehen durch Anwendung starker Okulare, da es hierdurch eben nur gröfser und nicht deutlicher, wohl aber lichtärmer wird.

Um diesen so einfachen Zweck zu erreichen, nämlich ein durch eine Konvexlinse entworfenes reelles Bild durch eine andere Konvexlinse zu betrachten, erfordert es doch ein exakt gebautes Instrument, da hier noch eine Reihe von Punkten mit in Betracht kommen, von denen einige kurz erwähnt werden sollen.

Die Erzeugung deutlicher Bilder beeinträchtigen die sphärische und chromatische Aberration.

[§ 42] Die sphärische Aberration beruht darauf, dafs wegen der Kugelgestalt der brechenden Fläche die von einem Punkt des Objekts ausgehenden Strahlen nicht genau in einem Punkt vereinigt werden. Je stärker die Krümmung und damit die Vergröfserung, desto stärker ist auch die sphärische Aberration. Dieselbe wird kompensiert durch Kombination mehrerer wenig stark gekrümmter Linsen zu einem Objektivsystem an Stelle eines sehr stark gekrümmten und durch Abblendung der Randstrahlen.

[§ 43] Die chromatische Aberration beruht darauf, dafs das weifse Licht aus verschiedenfarbenen Strahlen zusammengesetzt ist, welch letztere bei ihrem Weg durch die Linse verschieden stark gebrochen werden. Verbessert wird dieser Fehler, indem man Linsen aus verschiedenen Glassorten von annähernd gleichem Brechungsvermögen, aber ungleichem Farbenzerstreuungsvermögen combiniert.

Flintglas hat ein starkes, Crownglas ein weniger starkes Farbenzerstreuungsvermögen. Wenn die Strahlen zuerst durch das Crownglas gehen, das die Form einer Konvexlinse habe, so werden dieselben stark gebrochen und es tritt eine Farbenzerstreuung auf.

Man kann nun eine Konkavlinse von Flintglas konstruieren, welche in ihrer Eigenschaft als Konkavlinse die Farbenzerstreuung fast ganz aufhebt. Die Ablenkung hebt dieselbe jedoch nur zum geringeren Teil auf. Es ist damit der Weg gegeben, um die Lichtstrahlen abzulenken und die Farbenzerstreuung zu eliminieren.

3. Kapitel.

Die Einstellung.

[§ 44] Um die Objekte, welche untersucht werden sollen, in geeigneter Weise hiefür vorzubereiten, bedient man sich allgemein dickerer und dünnerer Glasplatten, ersterer, um das Objekt daraufzulegen, letzterer, um dasselbe damit zu bedecken. Man nennt sie **Objektträger** und **Deckgläschen.**

[§ 45] Der **Objektträger** ist eine Glasplatte von Rechteckform. Die handlichste Gröfse ist das englische Format 76 : 26 mm. Dasselbe bietet für ein grofses Deckglas und für zwei Etiketten Raum. Letztere werden zu beiden Seiten des Deckglases aufgeklebt, wenn das Präparat aufgehoben werden soll, um darauf zu notieren: Tier, Organ, Fixierung, Färbung, Datum, eventuell Seriennummer.

Ein kleineres Format ist für Präparate, welche nicht aufbewahrt werden sollen, wohl auch genügend, doch gewöhnt man sich besser an ein einheitliches Format.

Der Objektträger mufs aus reinem Glas bestehen, braucht jedoch keine geschliffenen Kanten zu haben.

[§ 46] **Deckgläschen** sind kleine dünne Glasplättchen. Die Dicke derselben beträgt meist 0,1—0,2 mm. Die Gröfse der Deckgläschen richtet sich nach dem Objekt, es empfiehlt sich, mindestens solche von zwei Gröfsen vorrätig zu halten. Runde Deckgläschen sind nur für ganz bestimmte Zwecke (siehe § 198) erforderlich.

Deckgläschen liefern z. B. Stender in Leipzig und Vogel in Giefsen.

[§ 47] Das Ganze pflegt man ein mikroskopisches Präparat zu nennen.

Doch ist damit nicht gesagt, dafs hiezu stets Objektträger und Deckgläschen notwendig wären, es kann z. B. unter gewissen Umständen geboten sein, Präparate ohne Deckglas anzufertigen oder ein Objekt zwischen zwei Deckgläschen einzulegen.

[§ 48] Bedingung für Beobachtung mit durchfallendem Licht ist, dafs das zwischen Objektträger und Deckgläschen befindliche Objekt ganz oder zum Teil durchsichtig oder wenigstens durchscheinend ist.

Um das Objekt zu sehen, mufs das Präparat auf den Objekttisch gebracht, beleuchtet und es mufs der Tubus so gestellt werden, dafs die Frontlinse des Objektivs sich in der richtigen Entfernung vom Objekt befindet. Dies nennt man Einstellen.

[§ 49] Das **Einstellen** geschieht in folgender Weise:

Zuerst wird das Mikroskop auf einen feststehenden Tisch nahe einem Fenster, das den Ausblick auf einen möglichst grofsen Abschnitt des Himmels gewährt, gestellt. Das Mikroskop bleibt während der ganzen Untersuchung an derselben Stelle und wird nicht verschoben.

[§ 50] Jetzt schraubt man an das untere Ende des Tubus das schwache Objektiv an, wir fassen hierbei Leitz N. 3 ins Auge (für andere Systeme sind die Abstände verschieden). Dabei hüte man sich, die Windungen durch unrichtiges, namentlich gewaltsames Eindrehen zu beschädigen. Dann setzt man in das obere Ende des Tubus ein schwaches Okular z. B. Leitz Nr. I ein und sieht hinein. Zunächst sieht man unter Umständen noch nichts.

Man verschiebt dann den Spiegel, indem man diejenige Spiegelstellung sucht, bei welcher derselbe das vom Fenster auf ihn fallende Licht, am besten das einer weifsen Wolke

(schlechter: der blaue Himmel) so reflektiert, dafs die Strahlen in den Tubus, durch denselben und in das Auge des Beobachters fallen. Man sieht dann einen hellen Kreis, welcher **Gesichtsfeld** genannt wird, in dem Gesichtsfeld erscheint später das mikroskopische Bild.

Nun legt man das Präparat auf den Objekttisch und zwar so, dafs die Stelle des Objekts, welche man besehen will, in der Mitte des Loches im Tisch sich befindet.

Dann wird der Tubus langsam stets in drehender Bewegung in der Hülse nach abwärts geschoben, bis die Frontlinse etwa noch 1½ cm vom Objekt entfernt ist. Dann wird wieder hineingesehen und sehr langsam stets drehend nach abwärts geschoben, bis irgend etwas, wenn auch kein deutliches Bild im Gesichtsfeld erscheint. Wird etwas, wenn auch nur undeutlich sichtbar, so hört man sofort auf zu senken. Es beginnt dann die feinere Einstellung mit der Mikrometerschraube.

[§ **51**] Zur Einstellung mit der Mikrometerschraube genügt meist eine geringe, höchstens halbe bis ganze Umdrehung, um das vorher verschwommene Bild in seiner ganzen Deutlichkeit hervortreten zu lassen. Von nun an bleibt während des Sehens die eine Hand stets an der Mikrometerschraube und zwar aus folgendem Grund. Da man stets nur in einer Ebene gut sieht, der Schnitt aber eine bestimmte Dicke hat, so mufs man bald etwas höher, bald etwas tiefer einstellen. Das geschieht dadurch, dafs man während des Sehens die Mikrometerschraube von Zeit zu Zeit um ein Geringes nach beiden Richtungen abwechselnd dreht.

Die Mikrometerschraube läuft bei längerem Gebrauch, wenn nach einer Seite mehr als nach der anderen gedreht wird, zu Ende, und mufs dann um einige Windungen zurückgedreht werden.

Für den Anfänger empfiehlt es sich, beim Mikroskopieren das eine Auge zu schliefsen. Später lernt man sehen, auch bei offenem anderem Auge.

[§ 52] Will man ein **stärkeres** Objektiv benützen, so wird in derselben Weise wie oben verfahren, nur ist hier zu beobachten, dafs die Entfernung der Frontlinse vom Deckglas nur noch eine ganz geringe ist. Man schiebt daher den Tubus zunächst nach abwärts, bis die Frontlinse etwa noch 1 mm vom Deckglas entfernt ist, sieht dann ins Mikroskop und schiebt nun äufserst vorsichtig und langsam mit der Hand den Tubus immer in drehender Bewegung nach abwärts. Ist etwas sichtbar geworden, so folgt feine Einstellung

mit der Mikrometerschraube. Das Einstellen mit starkem Objektiv erfordert gröſste Vorsicht, da es sich hier um Bruchteile eines Millimeters handelt. Hat man zu tief nach abwärts gedreht, so passiert es leicht, daſs das Deckgläschen eingedrückt und so mit dem Objekt zerstört wird. Auch eine Beschädigung der Linse ist nicht ausgeschlossen.

[§ 53] Es bleibt auch für weitere Untersuchungen, wenn stärkere Systeme angewandt werden, Regel, stets zuerst das schwache Objektiv zu benützen. Stärkere Okulare sind nur ausnahmsweise anzuwenden. Sie sind für die Regel unnötig.

Es wird demnach untersucht zuerst mit z. B. Leitz-Okular I, Objektiv 3, dann mit Okular I, Objektiv 7.

[§ 54] Die **Benützung der Blende** ist auszuprobieren, man lernt sie meist erst bei feineren Untersuchungen in ihrem vollen Wert zu würdigen. Jedenfalls gelte es als Regel, daſs für eine schwache Vergröſserung keine engen Blenden angewandt werden.

Eine bedeutende Rolle spielt die Blende bei Anwendung des Abbe'schen Beleuchtungsapparates. Hier empfiehlt es sich stets, wenn man Gewebe sehen will, die Randstrahlen abzublenden. Will man dagegen nur Farben sehen (z. B. gefärbte Bakterien oder gefärbte Karyokinesen), so lasse man das Licht voll einwirken.

[§ 55] Will man Objekte mittels des Okularmikrometers, einer ins Okular einsetzbaren Glasplatte mit eingeritzten Teilstrichen, **messen,** so muſs der Wert eines Teilstriches desselben bekannt sein.

Meist wird der Wert des Teilstriches für jedes System eines Instruments bei bestimmter Tubuslänge vom Fabrikanten angegeben.

Selbst bestimmen kann man den Wert des Teilstriches des Okularmikrometers, man braucht dazu einen Objektivmikrometer. Der Objektivmikrometer ist ein Objektträger, auf welchem 1 mm durch eingeritzte Teilstriche in eine bestimmte Zahl, z. B. 50 oder 100 Teile geteilt ist. Man stellt nun unter Benutzung des Okularmikrometers den Objektivmikrometer ein und sieht, wie viele Teilstriche des Objektmikrometers ersterer deckt. Deckt z. B. der 100teilige Okularmikrometer 80 Teilstriche des 100teiligen Objektivmikrometers, so hat ein Teilstrich des Okularmikrometers den Wert von $\frac{0,80}{100}$ mm = 0,008 mm. Für die spätere Messung muss dieselbe Tubuslänge beibehalten werden.

Der Wert eines Teilstriches wird ausgedrückt in $\frac{1}{1000}$ mm $\left(\frac{1}{1000}\right.$ mm ist die Einheit der Mikroskopiker und wird

genannt ein Mikron, geschrieben 1 μ). Ist beispielsweise der Wert eines Teilstriches bei einem bestimmten System und bestimmter Tubuslänge = 8 μ und mifst ein Objekt 7 Teilstriche, so ist die wirkliche Gröfse des Objekts 7 · 8 μ = 56 μ (56 Mikra) oder = 0,056 mm.

Man benutzt den Okularmikrometer in der Weise, dafs man denselben in das Okular unter zeitweiliger Abnahme der Okularlinse auf die im Okular befindliche Blende legt und dann einstellt.

[§ 56] Für Gröfsenbestimmungen kann man sich auch des Objektivmikrometers allein bedienen. Mittels eines Zeichenapparates zeichnet man die Striche des Objektivmikrometers ab und legt das Präparat an Stelle des Objektivmikrometers. Es decken sich dann das mikroskopische Bild und die Teilstriche auf dem Papier im Auge. Da die Gröfse eines Teilstriches des Objektivmikrometers bekannt ist, so kann man damit direkt messen.

Instandhalten des Mikroskops.

[§ 57] Eine stete Reinhaltung des Mikroskops ist notwendig. Bleibt das Mikroskop aufserhalb seines Kastens stehen, so mufs es mit einem Glassturz bedeckt werden, dabei muss die Unterlage eine weiche sein.

Der Objekttisch ist sorgfältig rein zu halten, auf der Unterseite feuchte Objektträger dürfen nicht aufgelegt werden.

[§ 58] Einer öftern **Reinigung** bedürfen die **Linsen** des Okulars, vor allem ist die dem Beobachter zugekehrte Fläche der Okularlinse — stets vor Benutzung mit einem trockenen Tuch abzuwischen..

Besondere Vorsicht erfordert die Reinigung der Objektive. Hier kommt hauptsächlich die Frontlinse in Betracht, welche durch das Präparat und seine Bestandteile beschmutzt werden kann, wenn es auch vermieden werden sollte.

Reinigen der Tauchlinsen, die mit Öl beschmiert waren, geschieht dadurch, dafs man das Öl mit dem reinsten schwedischen Fliefspapier auf das vollkommenste absaugt und die Linsen definitiv mit einem feinen Leinwandlappen reinigt.

Glycerin und Wasserflecken werden mit einem trockenen Tuch intensiv abgewischt.

Canadabalsam wird mittels eines Tuches entfernt, das mit einem Canadabalsam lösenden Mittel (siehe § 193) z. B. Toluol oder Benzin angefeuchtet ist. Das Abwischen mufs mit Vorsicht geschehen, um die die Linsen verbindende

Masse oder die Kittmasse, welche die Linsen in ihrer Fassung hält, nicht zur Lösung zu bringen, was geschehen kann, wenn Toluol durch Kapillarität aufgesaugt wird.

[§ 59] Zu warnen ist hier noch davor, niemals ein stark erwärmtes Präparat, namentlich mit einer stärkeren Vergröfserung betrachten zu wollen, da auch dadurch eine Beschädigung der die Linsen verbindenden Kittsubstanz erfolgen kann.

[§ 60] Der Tubus mufs stets leicht in der Hülse verschieblich sein, geht er schwer, so mufs er herausgenommen und geölt werden, doch darf nicht so stark geölt werden, dafs der Tubus von selbst durch seine eigene Schwere nach abwärts gleitet. Ein Tropfen Öl genügt, dieser wird dann durch Drehen des Tubus in der Hülse gleichmäfsig ausgebreitet.

[§ 61] Bei Anfertigung eines mikroskopischen Präparates müssen Objektträger und Deckgläser stets vorher gereinigt werden, dies geschieht durch Feuchtmachen und intensives Abwischen mit einem reinen Taschentuch.

Um die Objektträger, resp. Deckgläser, vom Hüttenrauch zu reinigen, taucht man sie auf längere Zeit in eine konzentrierte Salpetersäure und spült dann mit reinem Wasser, absolutem Alkohol eventuell Äther ab. Für gebrauchte Objektträger und Deckgläser, die mit Balsam u. s. w. beschmutzt sind, empfiehlt sich eine folgende Waschflüssigkeit, worin die Objektträger, resp. Deckgläser längere Zeit verweilen und mit Alkohol, resp. Wasser abgespült werden; Wasser 2000, doppeltchromsaures Kalium 200, starke Schwefelsäure 200.

II. Abschnitt.

Die Anfertigung des Präparates.

[§ 62] Es gibt eine Reihe von Organen, welche ohne weiteres im **frischen** Zustande untersucht werden können. Es sind beispielsweise die Blutkörperchen, dünne Platten, wie Mesenterium, Omentum; weiter dünne durchsichtige Nerven, Gefäfse, Knorpelstücke, Haare u. s. w., abgestofsene oder abgeschabte Zellen (Epithelien der Mundhöhle) Spermatozoen, Eier und Ähnliches.

[§ 63] Bei einigen Tieren, z. B. beim Frosch (siehe § 320 und folgende) kann man an einem noch lebenden Tiere zahlreiche Organe resp. Gewebe beobachten; (Lunge, Mesen-

terium, Zunge, Haut, Pigmentzellen, Nerven, Gefäfse, Blut u. s. w.). bei demselben Tiere kann man an einer ausgebreiteten Harnblase glatte Muskeln, Epithelien etc. bequem beobachten.

Andere Organe lassen sich durch verhältnismäfsig geringe Eingriffe frisch in Stücke zerlegen, die ohne weiteres beobachtet werden können. Es lassen sich beispielsweise mit aufserordentlicher Leichtigkeit Sehnen und Muskeln in Fasern durch Zupfen zu Fibrillen zerlegen.

[§ 64] Beim **Zupfen** bediene man sich zweier in Griffen befestigter Nadeln. Handelt es sich um Objekte, welche in der Längsrichtung gefasert werden sollen, so setze man eine Nadel am einen Ende des Stückes auf und zerfasere mit der andern das Objekt, indem man dieselbe stets der Längsrichtung des Objekts parallel bewegt. Die Nadeln müssen stets rein und spitz sein, man schleife sie auf einem Steine.

[§ 65] Einige Gewebe sind so konsistent, dafs man sie mit einem gewöhnlichen Rasiermesser schneiden und in dieser Weise dünne durchsichtige Lamellen gewinnen kann.

[§ 66] Das **Schneiden mit dem Rasiermesser** erfordert Übung, um gute Resultate zu geben. Doch kommt man rascher zum Ziele, wenn man von Anfang an bestimmte Regeln beobachtet.

Man schneide gegen sich (nicht von sich). Man schneide stets ziehend, d. h. so, dafs man mit einer Stelle des Messers beginnt zu schneiden, aber nicht mit dieser Stelle das Stück durchschneidet, sondern die Klinge während des Schneidens ihrer Längsrichtung parallel am Stück vorbeizieht, wie mit einer Säge, nicht wie mit einem Keil.

Man schneide stets feucht, d. h. das Stück, welches geschnitten wird, darf nicht trocken sein und die Klinge mufs durch Eintauchen vor jedem Schnitt befeuchtet werden.

Eine ungezwungene Handhaltung ist erforderlich. Man fasse das geöffnete Rasiermesser von oben mit dem Daumen auf der der Schneideseite entsprechenden Partie des Griffs und des anliegenden Messereinsatzes, mit dem Zeige- und Mittelfinger auf dem der Rückenseite entsprechenden Teil.

Das Stück, welches geschnitten werden soll, fasse man fest zwischen die drei ersten Finger der andern Hand, halte dieselbe so, dafs der gekrümmte Zeigefinger parallel der Tischebene steht; man kann nun beim Schneiden den Messerrücken auf den Zeigefinger aufstützen.

Zum Halten des Präparats, wenn es kleine Stücke sind, kann man Hollundermark oder in Alkohol gehärtete Leberstücke verwenden.

Zuerst lerne man, kleine aber möglichst dünne Schnitte machen, dann erst gröfsere.

[§ 67] Das Rasiermesser mufs stets vor dem Gebrauch auf dem Streichriemen abgezogen werden. Hiebei lege man das Rasiermesser mit seiner ganzen Fläche auf den Riemen und ziehe es mit dem Rücken voran über denselben weg, indem man allmählich während eines Zuges die ganze Länge des Messers mit dem Riemen in Berührung kommen läfst, zuerst die dem Griff nahe Partie, dann die Spitze. Nun wende man das Messer, ohne es wegzunehmen, über den Rücken und verfahre zurück ebenso mit der andern Seite und so fort.

Wohlgeschliffene und gut abgezogene Messer sind das erste Erfordernis für gutes Schneiden. Schneiden und Abziehen lernt man leichter und besser durch das Sehen.

[§ 68] Durch parenchymatöse, verhältnismäfsig kompakte Organe, wie Niere, Leber etc., lassen sich mit dem gewöhnlichen Rasiermesser einigermafsen gute Schnitte bei grofser Übung herstellen, die aber dick auszufallen pflegen. Dünne durchsichtige Lamellen durch solche Gewebe lassen sich eher mit einem sogenannten **Doppelmesser** anfertigen.

[§ 69] Das Doppelmesser besteht aus zwei Klingen an einem Heft; die parallel gestellten beiden Klingen liegen einander an, so dafs sie sich an der Spitze berühren und nahe dem Heft etwas weiter von einander entfernt sind. Durch eine Schraube können die beiden Messer einander mehr oder weniger genähert werden. Wird die Schraube gelöst, so kann das eine Messer an einem Scharnier aufgeklappt werden. Für feine Schnitte kommt nur die Stelle des Messers in Betracht, an der die beiden Klingen sich sehr nahe stehen, ohne sich jedoch zu berühren.

Geschnitten wird, indem man mit dem benetzten Doppelmesser rasch ziehend ein Organ, z. B. frische Leber, durchschneidet. Dasselbe zerfällt dann in zwei Teile und in eine feine, zwischen den beiden Klingen befindliche Scheibe. Diese entnimmt man, indem man die Klingen durch Lösen der Schraube und Aufklappen der einen Klinge von einander entfernt.

[§ 70] Will man frische überlebende Organe längere Zeit möglichst unverändert beobachten, so gebraucht man als **Zusatzflüssigkeit** sogenannte indifferente Lösungen. Als solche wendet man an

[§ 71] die physiologische Kochsalzlösung ($^3/_4$%ige wässerige Lösung);

[§ 72] das sogenannte M. Schultzesche Jodserum (Amnios Flüssigkeit bis zur Sättigung mit Jod oder Jodtinktur versetzt);

[§ 73] Jod-Jodkalium nach Ranvier:

100 Wasser,
2 Jodkalium und
Jod bis zur Sättigung;

[§ 74) Kroneckersche Flüssigkeit;

destilliertes Wasser	100	gr
Natriumchlorür	6	»
Soda	0,06	»

[§ 75] Die meisten Organe lassen sich im frischen Zustande nicht in dünne Lamellen, weder mit dem Rasier-, noch Doppelmesser zerlegen; entweder sind sie zu hart infolge des Kalkgehaltes, wie Knochen, Zähne, und werden durch Entkalken schnittfähig gemacht (siehe § 350 ff.), oder werden durch das sogenannte Schleifen in dünne Lamellen zerlegt (siehe § 367 ff.), oder sie sind zu wenig consistent, und will man diese in dünne Lamellen zerlegen, so muss man denselben eine Konsistenz verleihen, die das Schneiden ermöglicht.

[§ 76] Am einfachsten läſst man solche Organe gefrieren (siehe § 154 ff.) oder kleinere Stücke trocknen und schneidet sie dann. Im ersteren Falle untersucht man die Schnitte, wenn sie auf dem Objektträger aufgetaut sind, im letzteren Falle, indem man den Schnitten so viel Wasser zusetzt, bis sie ihr ursprüngliches Volumen annähernd erreicht haben.

[§ 77] Man kann aber die Objekte auf eine andere Weise durch Wasserentziehen, resp. Koagulieren des Eiweiſses härten, nämlich durch **Alkohol.** Man wendet die **Alkoholhärtung** entweder in der Weise an, daſs man die nicht zu groſsen Organe erst mit schwachen und dann mit stärkeren Alkohollösungen behandelt (für ein 1 ccm groſses Stück mit 50-, 70-, 90%igem Spiritus je 24 Stunden) oder wenn die Stücke sehr klein sind, nicht über ein paar Millimeter im kleinsten Durchmesser, indem man sie direkt mit sehr starkem 90%igem Spiritus und bei den allerkleinsten unter 1 mm mit absolutem Alkohol härtet.

[§ 78] An frischen Objekten sieht man auſserordentlich viele Dinge gar nicht, weil im frischen Zustande die Verschiedenheit des Lichtbrechungsvermögens der einzelnen Bestandteile des Protoplasmas eine sehr geringe ist.

Das Gefrieren und das Trocknen ist sehr eingreifend. Beim Gefrieren kommt es, wie Key und Retzius nachgewiesen haben, durch die sich bildenden Eiskrystalle zu

Zerreifsungen, die beim Auftauen des Schnittes nicht ganz ausgeglichen werden. Beim Trocknen schrumpfen die Stücke, namentlich bei sehr wasserhaltigen Organen, aufserordentlich, wobei es zu Dislokationen kommt, die beim Wasserzusatz nur unvollständig gehoben werden.

Die Härtung mit Alkohol ist ebenfalls für die Erhaltung feiner Strukturen nicht immer geeignet, ja in sehr vielen Fällen, z. B. Kerne, Nerven, Fett, ganz unbrauchbar.

In folgendem beschäftigen wir uns mit der Angabe von Methoden, die die Einsicht in die Struktur massiger Gewebe und Organe erlaubt, wobei die Strukturverhältnisse annähernd erhalten bleiben und den im Leben bestehenden nach Möglichkeit nahe kommen.

1. Kapitel.

Fixation für allgemeine Zwecke.

[§ 79] Wir verstehen darunter jene Fixationsmethoden, die auf viele, ja manche auf alle Organe mit gleichem Erfolge angewandt werden. Sie leisten, auf verschiedene Organe angewandt, nicht gleich Gutes, erlauben aber einen Einblick in den allgemeinen Bau der Organe. Wir schildern der Reihe nach die heute gebräuchlichsten Fixationsflüssigkeiten für diese Zwecke.

[§ 80] Der Ausdruck »Konservierung« wird im folgenden nicht gebraucht, da es ja nicht möglich ist, die Objekte in dem Zustand zu erhalten, in welchem sie im Leben sind, vielmehr sehen wir ganz veränderte Verhältnisse und suchen, aus diesen auf diejenigen zu schliefsen, welche im Leben herrschen.

[§ 81] **Chromsäure** wird in einer 1/3- bis 1/2%igen wässerigen Lösung angewandt. Die zu fixierenden Stücke, je kleiner, desto besser, nicht über 1 cm im gröfsten Durchmesser betragend, werden in sehr viel Chromsäure, mindestens 50 mal mehr Flüssigkeit, als wie das Volumen des zu fixierenden Stückes beträgt, auf 24 Stunden gelegt. Bei gröfseren Stücken kann die Flüssigkeit nach 24 Stunden gewechselt werden und das Stück in einer frischen, ebenso starken oder etwas stärkeren, etwa 1/2%igen, abermals 24 Stunden verbleiben. Die Stücke werden nun ausgewässert, und zwar in grofsen Mengen Wassers, das oft gewechselt wird, oder noch besser im fliefsenden Wasser. Das Auswaschen dauert ebenso lange, wie das Fixieren, es sollen die Stücke nach dem Auswaschen nichts von der gelben Chromfarbe mehr besitzen.

Aus dem Wasser kommen die fixierten, farblosen Stücke auf 24 Stunden in 70%igen Spiritus, um nach 24 Stunden

in 90%igen übertragen zu werden. Die Menge des zu benutzenden Spiritus mufs mindestens das Volumen des Stückes 30mal überschreiten.

[§ 82] Die Chromsäure wurde zuerst von Hannover als Fixationsflüssigkeit empfohlen und wurde früher sehr allgemein benutzt; sie fixiert namentlich gut die chromatischen Substanzen des Kernes.

[§ 83] Eine **3- bis 5%ige Salpetersäure** auf kleine Stücke angewandt, liefert sehr Gutes. Man fixiere nicht über sechs Stunden und übertrage die Objekte in 70%igen Spiritus, welcher nach 24 Stunden mit 80%igem und nach abermals 24 Stunden mit 90%igem vertauscht wird.

Stärkere Lösungen, namentlich wenn sie längere Zeit einwirken, lösen das Chromatin.

[§ 84] Das **doppelt-chromsaure Kalium** in von 2 auf 5% ansteigender wässeriger Lösung, die **Müllersche und Erlickische Flüssigkeit,** kommt bei der Untersuchung sämtlicher Organe in Anwendung. Das Kalium bichromicum und die Müllersche Flüssigkeit werden ziemlich in gleicher Weise benutzt, aber, wie gesagt, Kalium bichromicum in ansteigender Koncentration. Die Müllersche Flüssigkeit besteht aus

2 bis 2½ g Kalium bichromicum
1 g Natrium sulfuricum und
100 ccm Wasser.

Nicht allzu grofse Stücke werden in diesen Flüssigkeiten sehr lange Zeit fixiert; in der ersten Woche wird die Flüssigkeit alle zwei Tage gewechselt, später jede Woche zweimal; mittelgrofse Objekte, wie z. B. Rückenmark des Menschen, brauchen etwa 6—8 Wochen. Eine beträchtlich kürzere Zeit bei ziemlich gleichen Resultaten und bei einer gleichen Anwendung nimmt die Erlickische Flüssigkeit in Anspruch. Sie besteht aus

2½ g Kalium bichromicum
½ g cuprum sulfuricum und
100 ccm Wasser.

Man wechselt die Flüssigkeit alle zwei Tage und es vollzieht sich die Härtung in einer 3- bis 4mal kürzeren Zeit, wie bei der Müllerschen.

[§ 85] Bei diesen langsam fixierenden Flüssigkeiten kommt es klar zum Ausdruck, von welch grofsem Einflufs die Temperatur ist. Bei höherer Temperatur braucht man viel kürzere Zeit, wie bei der niederen; so kann man mit Erlickischer Flüssigkeit beispielsweise in einem künstlich auf

40° geheitzten Raume ein Rückenmark des Menschen in vier bis fünf Tagen genügend fixieren.

Müllersche Flüssigkeit bei einer Temperatur von 30 bis 40° C., also im Thermostat (siehe § 120), fixiert in 8—10 Tagen.

Der Flüssigkeit setze man etwas Kampher zu (gegen Mikroorganismen). Hier wie überall mache man es sich zur Regel, den Boden der Gefäfse mit Filtrierpapier zu bedecken und darauf die zu behandelnden Schnitte zu legen.

Für allgemeine Zwecke werden die fixierten Stücke mit oft zu wechselndem resp. fliefsendem Wasser ausgewaschen, bis sie keine Farbe mehr abgeben, 1—2 Tage, dann in 70%igen Spiritus auf 24 Stunden übertragen, dann in 80%igen.

[§ 86] Um die lästigen Niederschläge nach der Fixierung mit Erlickischer Flüssigkeit zu beseitigen, genügt ein Einlegen derselben vor Behandlung mit Alkohol in ½%ige Chromsäure (Löwenthal) oder aber in warmes Wasser oder ein schwach mit Salzsäure angesäuertes Wasser (Edinger).

[§ 87] Die oben erwähnten Substanzen eignen sich nicht für das Studium der Kerne, welche stark angegriffen und deren Bestandteile zum Teil darin gelöst werden. Auch diese Flüssigkeiten werden gegenwärtig viel weniger wie früher gebraucht, spielen aber noch heute, namentlich bei der Untersuchung des Nervensystems (siehe § 434 ff.) und des Auges eine wichtige Rolle.

Überosmium-Säure. (Osmiumsäure.)

[§ 88] Die Osmiumsäure ist sehr teuer, 1 g kostet ca. 5 Mark; sie ist sehr giftig und die Dämpfe derselben greifen aufserordentlich die Schleimhäute an. Aus der wässerigen Osmiumsäurelösung bewirken die reducierenden Agentien (auch Sonnenlicht) das Ausscheiden des metallischen schwarzen Osmiums; dieselbe wird deshalb in schwarzen Flaschen aufbewahrt. Die Osmiumsäure ist in hermetisch geschlossenen, gewöhnlich 1 g haltigen Gläsern, käuflich.

[§ 89] Die Überosmium-Säure wird in einer ½- bis 1-ja 2%igen wässerigen Lösung angewandt. Gewöhnlich nimmt man eine 1%ige Lösung. Die Osmiumsäure fixiert momentan, dringt aber nicht tief genug in die zu fixierenden Stücke ein; man wähle deshalb möglichst kleine Stücke, denn bei einem gröfseren werden blofs die an der Oberfläche des Organs gelegenen Zonen etwa ½ mm dick durch die Osmiumsäure fixiert. Die Osmiumsäure hebt Verschiedenes hervor, indem sie gleichzeitig durch Oxydieren die natürlichen Farben verschiedener Gewebe verschieden verändert. So werden die Kerne schmutzig gelb, elastische Fasern grau-braun, Fett und Rückenmark schwarz etc. In einem sehr gut verschlossenen Glase läfst man die Flüssigkeit etwa 24 Stunden

einwirken, man spült die Stücke etwa ½ Stunde, auch länger, mit destilliertem Wasser ab und überträgt dieselben direkt in 90%igen Spiritus, wo sie bis zum weiteren Bearbeiten verbleiben.

[§ 90] Die Osmiumsäure wird auch in Dampfform angewandt, namentlich, wenn sehr kleine Gewebsteile oder Organismen sehr rasch getötet werden sollen.

Die Osmiumsäureräucherung geschieht so, dafs in ein flaches Glas auf den Boden einige Tropfen Osmiumsäure gebracht werden. An eine andere Stelle des Glases, so dafs es von der Osmiumsäure nicht berührt wird, legt man das Objekt oder hängt es mit einem Faden in das Glas und bedeckt nun das Glas mit einem Glasdeckel.

[§ 91] Die mit Osmiumsäure fixierten Objekte lassen nach Flemming auch eine Nachfärbung mit Hämatoxylin oder mit Alaunkarmin zu, besonders schön werden Präparate der Retina.

[§ 92] Osmiumsäure wurde von Max Schultze und Rudneff in die Technik eingeführt.

[§ 93] Die Chromsäure wirkt etwas schrumpfend und man ist deshalb auf den Gedanken gekommen, diese schrumpfende Wirkung durch ein aufquellendes Corrigens aufzuheben. Auf diese Weise sind die wertvollen Chrom-Osmium-Essigsäure-Gemische entstanden. Will man noch eine rasch tödende Flüssigkeit hinzufügen, so bekommt man durch Ausprobiren das so rasch fixierende und ausgezeichnet konservierende Chrom-Osmium-Essigsäure-Gemisch, die sogenannte Flemmingsche Flüssigkeit.

[§ 94] Die von Flemming empfohlene **Chrom-Essigsäure** eignet sich namentlich zur Fixierung der achromatischen Fäden. Die Zusammensetzung dieser Flüssigkeit ist eine folgende:

⅕—¼ g Chromsäure
¹⁄₁₀ ccm Eisessig und
100 ccm Wasser.

Die in dieser Flüssigkeit zu härtenden Stücke dürfen nie ½ cm im Durchmesser überschreiten. Die Stücke werden ca 24 Stunden in dieser Flüssigkeit belassen, sie werden 24 Stunden im fliefsenden Wasser abgespült und durch 70%igen und 80%igen Spiritus je 12 Stunden in 90%igen übertragen. Die Färbung für den angedeuteten Zweck wird mit Hämatoxylin vorgenommen.

[§ 95] Eine ausgezeichnete Fixierungsflüssigkeit für Kerne

und Protoplasmastrukturen ist die **Chrom-Essig-Osmiumsäure-Mischung** von Flemming. Die Formel für diese heifst:

$^1/_4$ g Chromsäure,
$^1/_{10}$ » Osmiumsäure,
$^1/_{10}$ ccm Eisessig,
100 » destill. Wasser.

Da die Osmiumsäure nur in $^1/_2$ resp. 1 g enthaltenden hermetisch verschlossenen Gläsern verkauft wird, so würde man das Fünf- resp. das Zehnfache jeder der genannten Substanzen auf 500 resp. 1000 g Wasser nehmen. Da aber die betreffende Flüssigkeit namentlich bei öfterem Öffnen und Lichteinwirkung sich beim längeren Aufbewahren zersetzt, so ist es nicht unzweckmäfsig, jene Flemmingsche Formel auf eine 1%ige Osmiumsäure-, 1%ige Essigsäure- und 1%ige Chromsäure-Lösung umzurechnen, da diese Reagentien in diesen Lösungen in den Laboratorien gewöhnlich gehalten werden und das so lästige Abwägen und Abmessen kleinerer Quantitaten vermieden wird, und so bekäme man umgerechnet:

10 ccm einer 1%igen Osmiumsäure,
10 » eines 1%igen wässerigen Eisessigs,
25 » einer 1%igen Chromsäure, und
55 » Wasser.

Die Anwendung dieser Flüssigkeit ist eine sehr ausgiebige, und zwar für die Gewebe der erwachsenen und sich entwickelnden Tiere. Man braucht nicht sehr viel von der Flüssigkeit beim Fixieren immer kleiner Stücke, nicht über $^1/_3$ cm Seite anzuwenden. Man läfst die Flüssigkeit 24 Stunden einwirken, wäscht die so fixierten Stücke einige Stunden, nicht über 12, im destillierten Wasser und überführt sie dann durch 70%igen und 80%igen Spiritus, je 24 Stunden angewendet, in 90%igen Spiritus.

[§ 96] Die beste Färbung der Schnitte nach dieser Fixation ist die mit Safranin. Alles das, was mit Safranin bei einer bestimmten Anwendung desselben intensiv rot gefärbt bleibt, ist Chromatin.

[§ 97] **Sublimat** wird für gewöhnlich in einer kalt gesättigten Lösung angewandt. Man stellt diese am besten folgendermafsen her: Man nehme etwa 60 g Sublimat auf 1000 Wasser und löse es durch Erwärmen, filtriere die warme Lösung und lasse sie erkalten. Am Boden des kalt gewordenen Gefäfses bilden sich weifse Krystallnadeln, es ist die überstehende Flüssigkeit als eine gesättigte zu betrachten. Stücke, nicht über $^1/_3$ cm im Durchmesser, werden

nun in dieser Flüssigkeit je nach der Gröfse 1 bis 3 Stunden fixiert, hierauf mit 70%igem Spiritus behandelt 24 Stunden lang, auf ebenso lange Zeit in 80%igen übertragen und in 90%igem Spiritus bis zur Bearbeitung aufgehoben. Da die Lösung eine koncentrierte ist, so kommt es namentlich bei Temperaturschwankungen im Zimmer zur Bildung von Krystallen in den zu härtenden Stücken. Dabei kommt es niemals zu bemerklichen Zerreifsungen und Dislokationen in den Geweben. Die Krystalle erscheinen bei durchfallendem Lichte schwarz und verdecken so das Darunterliegende; es ist also wünschenswert, diese Krystalle zu entfernen, ohne dabei die fixierten Gewebe irgendwie zu alterieren. Man thut am besten, wenn man kleine Mengen (einige wenige Tropfen auf 100 ccm) einer Jodtinktur [P. Mayer] (eine gesättigte alkoholische Jodlösung) oder Jodjodkalium zu dem wasserentziehenden Spiritus hinzusetzt. Es bilden sich dabei Verbindungen, die im Spiritus leicht löslich sind, und es verschwinden so die Krystalle. Es darf Jod so lange hinzugesetzt werden, bis die schwachgelbe Farbe der Flüssigkeit nicht mehr schwindet, und zwar kann dieser Zusatz sowohl zu dem 70%igen Spiritus als wie zu dem nun anzuwendenden 80%igen, als zu dem nach 24 Stunden anzuwendenden 90%igen erfolgen.

[§ 98] Eine noch viel raschere Fixation erhält man bei der Anwendung der auf die Koagulationstemperatur des Eiweifses erwärmten Sublimatlösung. Die Zeit, welche die Objekte in dieser erwärmten Lösung zu verbleiben haben, darf nicht eine halbe Stunde übersteigen. Für ganz kleine Objekte ohne Bindegewebe wurde auch das einmalige Eintauchen der Objekte in kochende Sublimatlösung empfohlen; es kommt aber dabei nur die Temperatur in Betracht, nicht das Sublimat, welches in der kurzen Zeit kaum, wenn die Objekte auch noch so klein gewählt werden, einzudringen vermag.

[§ 99] Sublimat läfst die meisten Färbungen zu, die Anilinfarben nicht ausgeschlossen; es sind aber namentlich die Färbungen mit Boraxkarmin in ganzen Stücken vor dem Schneiden (siehe § 221) zu empfehlen.

Für Sublimat hat man metallene Instrumente zu vermeiden; man verwende Hornlöffel, Glasnadeln und Holzstäbchen.

[§ 100] Für Organe, die nicht viel Bindegewebe enthalten, ist die **Pikrin-Schwefelsäure von Kleinenberg** resp. die **Pikrin-Salpetersäure von Paul Mayer** mit Erfolg anzuwenden. Die erstere Flüssigkeit wird in folgender Weise dargestellt: Man nimmt eine gesättigte Pikrinsäure in Wasser und bringt

ein Volumen koncentrierte Schwefelsäure in 100 Pikrinsäure, wobei sich ein kopiöser Niederschlag bildet. Nach 24 Stunden wird filtriert und das Filtrat mit zweifachem Volumen Wasser versetzt.

[§ **101**] Die Pikrin-Salpetersäure wird in der Weise bereitet, dafs man zu 100 ccm gesättigter wässeriger Pikrinsäure 2 ccm offizineller Salpetersäure zusetzt; es bildet sich nach und nach ein Niederschlag, der durch Filtrieren entfernt wird. Die so gewonnene Flüssigkeit ist nun zum Gebrauche fertig.

[§ **102**] Es werden möglichst kleine Stücke, auf keinen Fall über 1/2 cm Seite in einer der obengenannten Flüssigkeiten nicht über 3 Stunden belassen. Die intensiv gelb gewordenen Stücke werden mit oft zu wechselndem 70-, 80- und 90%igem Spiritus je 24 Stunden gewaschen, bis die gelbe Farbe fast vollständig verschwindet. Man färbt mit besonderem Erfolg Schnitte, so gehärteten Präparaten entnommen, mit Hämatoxylin.

[§ **103**] Kalt gesättigte Pikrinsäure allein kann mit Erfolg für kleinere Objekte als Fixierungsflüssigkeit angewandt werden. Man kann sie je nach der Gröfse des Objektes 24 Stunden und darüber wirken lassen, Waschen mit Wasser ebenso lange, Färbung mit Hämatoxylin u. s. w.

Für die Fixation sowohl chromatischer wie achromatischer Figuren hat Rabl folgende zwei Flüssigkeiten empfohlen:

[§ **104**] Die Chromameisensäure wird in der Weise bereitet, dafs man zu

100 ccm einer 1/3%igen Chromsäurelösung
2—3 Tropfen Ameisensäure

zusetzt. Möglichst kleine Stücke werden, auf 12—24 Stunden in diese Flüssigkeit gebracht, ebenso lange Zeit mit Wasser gewaschen. Dann werden sie in 60 bis 70%igen Spiritus auf 24 bis 36 Stunden übertragen und kommen direkt in absoluten Alkohol. (Die chromatischen Figuren quellen in dieser Lösung etwas auf.)

[§ **105**] In analoger Weise für dieselben Zwecke wird eine 1/3%ige Platinchloridlösung angewandt. Sie wird weder durch Licht noch Wärme reduciert. (Dieses Fixierungsmittel bewirkt eine geringe Schrumpfung in den chromatischen Fäden.)

2. Kapitel.

Durchtränkung.

[§ **106**] Fixierte Objekte, namentlich wenn sie aus verschieden harten Stücken bestehen, bieten zum Schneiden jedoch keine genügende Konsistenz, manche sind zu zart, als dafs man sie überhaupt mit der Hand anfassen könnte. Man emancipiert sich daher von der Konsistenz des Objekts, indem

man dasselbe mit einem Medium durchtränkt, welches nachher erstarrt. Dann schneidet sich das Ganze wie die Durchtränkungsmasse allein, vorausgesetzt, dafs das Objekt nicht härter als die Durchtränkungsmasse ist. Die gebräuchlichsten Durchtränkungsmassen sind Paraffin und Celloidin.

[§ 107] Die **Paraffindurchtränkung** hat so zu geschehen, dafs alle kleinsten Bestandteile des Objekts, also Zellen und Kerne von Paraffin durchdrungen sind in derselben Weise wie vorher von Alkohol.

Würde man nun einfach das Objekt aus dem Alkohol in geschmolzenes Paraffin übertragen und dann das Ganze erstarren lassen, so würde das Paraffin nicht eindringen, da es sich mit Alkohol nicht mischt, das Stück würde nur eingeschmolzen, aber nicht durchschmolzen oder durchtränkt. Man hat daher, ehe man das Objekt ins Paraffin bringt, dasselbe in eine Flüssigkeit zu bringen, welche sich einerseits mit Alkohol, andrerseits mit Paraffin mischt.

[§ 108] Solcher gibt es eine ganze Reihe z. B. Benzol, Toluol, Xylol, Chloroform, dann verschiedene Öle, Terpentinöl, Bergamottöl (ist teuer), Cedernholzöl.

[§ 109] Billig und hiefür zweckdienlich ist das **Toluol.** Nun ist aber zu beachten, dafs sich Toluol mit Wasser trübt, es darf daher das Objekt nicht aus dem 90%igen Alkohol in Toluol gebracht werden, sondern es mufs erst wasserfrei gemacht werden durch **absoluten Alkohol.**

[§ 110] Der im Handel käufliche absolute Alkohol ist meist nur 97—98%ig. Wasserfrei kann derselbe gemacht werden durch Einlegen von Stücken gerösteten Kupfervitriols in denselben.

[§ 111] Um das Eindringen der verschiedenen Stoffe allmählicher und dadurch die Operation zu einer weniger eingreifenden zu machen, bringt man die Objekte aus dem Toluol nicht direkt in reines Paraffin, sondern zunächst in eine **Mischung** von mehr Toluol und weniger Paraffin. Stellt man die Mischung in einen Thermostat (siehe § 120) von 50—55° C., so verdunstet allmählich das Toluol im Verlauf einiger Stunden, so dafs fast reines Paraffin bleibt. Ganz rein wird dasselbe jedoch nicht, es mufs daher das Objekt zum Schluss noch in **reines Paraffin** auf einige Stunden übertragen werden.

[§ 112] P a r a f f i n s o r t e n. Je nach der Temperatur, bei welcher man schneiden will, benützt man Paraffin von verschiedenen Schmelzpunkten, im Winter etwa zu 50° C., im Sommer zu 55° C.

[§ 113] Man thut gut, mit verschiedenen Paraffinsorten von verschiedenen Schmelzpunkten zu arbeiten und diese zu mischen.

Man nimmt als weichste Sorte ein Paraffin von 45—50^0 Schmelzpunkt, als härteste ein solches von 55—60^0 Schmelzpunkt. Je nachdem man nun von dem einen mehr oder weniger als von dem andern nimmt, erhält man ein Paraffin, das bei der gewünschten Temperatur flüssig wird.

[§ **114**] Graf Spee empfiehlt, überwärmtes Paraffin, namentlich für Bänderschneiden (siehe § 176) zu verwenden. Darstellung: Paraffin von 50^0 C Schmelzpunkt wird in einer offenen Porzellanschale über einer Spiritusflamme geschmolzen und dann weiter erhitzt, bis es, je nach der Quantität, in einer bis sechs Stunden unter Entwickelung unangenehm riechender weiſser Dämpfe, geringer Reduktion seines Volumens und Erhöhung seines Schmelzpunktes um einige Grade eine braungelbe, dem gelben Wachs oder Honig ähnliche Farbe angenommen hat.

[§ **115**] Die Zeitdauer, welche das zu durchtränkende Stück in den einzelnen Medien zu bleiben hat, richtet sich nach der Gröſse des Stückes. Am längsten muſs es in absolutem Alkohol bleiben, um das Stück ganz wasserfrei zu machen, und in der Mischung Toluol-Paraffin, um ein möglichst vollständiges Verdunsten des Toluols herbeizuführen.

[§ **116**] Die Zeit, welche sich für Stücke verschiedener Gröſse als Optimum empfiehlt, ist in Stunden:

	kleine Objekte unter 1 mm Seite	mittlere Objekte bis 5 mm Seite	groſse Objekte über 5 mm Seite	Sehr groſse Objekte
Absol. Alkohol	2	6	24	längere Zeit, aber auf Kosten der Güte
Toluol	1/2	2—3	3—4	
von jetzt an weiter im Thermostat				
Toluol-Paraffin	1	4	6	
Paraffin	1/2	2	3—4	

Der Aufenthalt von zweimal je 6 Stunden im Thermostat schadet nicht, vorausgesetzt, daſs die Entwässerung eine gute war.

[§ **117**] Es ist nicht Bedingung, daſs der Prozeſs des Durchschmelzens zeitlich ununterbrochen verlaufe, man kann z. B. in reines Paraffin gelegte Stücke Abends aus dem Thermostat herausnehmen, um sie morgens wieder hineinzustellen. Dies verdient unter Umständen den Vorzug gegenüber dem Verfahren, daſs die Stücke über Nacht im Thermostat verbleiben und so vielleicht Schaden nehmen könnten.

[§ **118**] Will man den Vorgang sehr allmählich und gleichmäſsig machen, so kann man, anstatt das Objekt aus Toluol in die Mischung überzuführen, dem Toluol Stücke ungeschmolzenen Paraffins zusetzen. Dieses wird schmelzend sich allmählich dem Toluol beimischen, während das Toluol verdunstet.

[§ **119**] Selbstverständlich kann man an Stelle des Toluol andere (in § 108 genannte) paraffinlösende Flüssigkeiten verwenden. Besonders beliebt ist hiefür Chloroform. Man bringt

das Objekt aus absolutem Alkohol in Chloroform. Zunächst schwimmt hier das Objekt an der Oberfläche, allmählich, indem sich Chloroform an die Stelle des Alkohol setzt, sinkt es zu Boden. Dann wird entsprechend weiter verfahren: Chloroform-Paraffinmischung, reines Paraffin.

[§ 120] Ein **Thermostat** besteht aus einem doppelwandigen Blechkasten mit einfachem Deckel. Der Raum zwischen dem inneren und dem äufseren Kasten wird mit Wasser oder Glycerin gefüllt.

Im Deckel des inneren Kastens, der als Wärmkammer dient, befindet sich ein Loch, durch welches ein Thermometer gesteckt werden kann. Am besten geschieht die Erwärmung durch eine Gasflamme. Da nun der Thermostat auf einer bestimmten Temperatur erhalten werden soll, so mufs eine Vorrichtung das weitere Erhitzen desselben, nachdem eine gewünschte Temperatur erreicht ist, verhindern. Dies wird dadurch erreicht, dafs durch einen Regulator der Gaszuflufs vermindert und damit die Flamme kleiner wird.

[§ 121] Der **Regulator**, welcher in ein zweites Loch im Deckel des inneren Kastens eingesetzt wird, besteht aus 2 Glasröhren, welche in einander geschoben sind, ohne sich zu berühren. Durch die innere, engere Röhre strömt Gas in die weitere, umfassende. Letztere ist oben und unten geschlossen, durch eine seitliche Öffnung strömt das Gas wieder aus zum Brenner.

Die engere Röhre ragt nicht ganz bis zum Boden der weiteren Röhre. Ein Teil der weiteren Röhre ist mit einer Flüssigkeit, z. B. Quecksilber gefüllt. In dieses taucht man wenn die gewünschte Temperatur des Ofens erreicht ist, die Spitze der engeren Röhre, welche schief abgeschnitten ist, ein. Steigt die Temperatur, so wird auch die Quecksilbersäule steigen und das Loch allmählich verschliessen, so dafs weniger Gas durchströmt. Um bei raschem Steigen und vollständigem Verschlufs der Röhre ein Erlöschen der Flamme zu verhüten, befindet sich oben in der engen Röhre eine kleine Öffnung, welche ein sehr geringes Ausströmen des Gases stets gestattet.

[§ 122] Für einfache Zwecke genügt ein über der Spiritusflamme erhitztes, Wasser enthaltendes Gefäfs, welches unter Benutzung eines Thermometers durch Kleiner- oder Gröfsermachen der Flamme bei konstanter Überwachung auf annähernd derselben Temperatur erhalten werden kann.

Die Gefäfse mit Paraffin etc. sollen nicht auf den Boden des Gefäfses gestellt werden, sondern auf einen Einsatz oder ein Bänkchen, um eine direkte Einwirkung der Flamme zu verhüten.

Besser ist es, um den nachteiligen Einfluss des Wasserdampfes zu vermeiden, wenn man dem Gefäſs einen Deckel gibt, der mit Löchern zum Einhängen der Paraffingefäſse versehen ist.

[§ **123**] Sehr hübsche derartige Apparate, für welche natürlich auch ein Regulator verwandt werden kann, sind unter dem Namen **„Neapler Wasserbad“** zu beziehen.

]§ **124**] Ist so das Objekt mit reinem Paraffin durchtränkt, so wird es in eine Form gegossen, **„eingebettet“.**

[§ **125**] Die Form muſs mit Glycerin in dünner Schicht ausgestrichen sein, damit sich das Hineingegossene, nachdem es erstarrt ist, wieder leicht herausnehmen läſst.

[§ **126**] Als Form dienen für mittelgroſse Objekte 2 auf eine Glasplatte aufgestellte Winkel, dies sind unter rechtem Winkel gebogene Metallplatten von Messing oder Schriftmetall, welche, je nachdem sie zusammengestellt werden, eine gröſsere oder kleinere Form geben.

[§ **127**] Vielfach werden als Form Papierkästchen oder Staniolkästchen benutzt, wie sie sich jeder leicht selbst anfertigt.

[§ **128**] Für sehr kleine Objekte bedient man sich mit Vorteil eines Uhrschälchens als Form.

[§ **129**] Das Verfahren ist folgendes. Nachdem die Form mit der den Boden bildenden Glasplatte gut mit Glycerin ausgestrichen ist, wird ein Spatel (ist eine Platte mit Stiel, erstere gewöhnlich aus vernickeltem Blech, die besten fertigt man aus Platin) und eine Nadel über der Spiritusflamme leicht erwärmt, Paraffin in die Form gegossen und das Objekt mit dem erwärmten Spatel übertragen. Das Objekt wird dann orientiert, d. h. mit der erwärmten Nadel in die Lage gebracht, in der es nachher geschnitten werden soll. Die Orientierung ist für manche Objekte sehr notwendig, da später, wenn das Paraffin erstarrt und undurchsichtig geworden ist, eine solche erschwert, bisweilen unmöglich ist. Ist das Objekt orientiert, so wartet man, bis das Paraffin ein Häutchen bekommt, was man durch Anblasen desselben befördern kann. Dann wird die ganze Form in kaltes Wasser gebracht, um ein möglichst rasches Erstarren herbeizuführen. Letzteres ist notwendig, da das langsam erstarrte Paraffin nicht so homogen wird und sich nicht so gut schneidet, wie das rasch erstarrte.

Nach etwa 30 Minuten langem Liegen in kaltem Wasser sind mittelgroſse Stücke erstarrt und können aus der Form genommen werden.

[§ **130**] Die Durchtränkung mit Kollodium ist von Duval in die mikroskopische Technik eingeführt worden.

[§ 131] **Schiefferdecker** hat als Ersatz dafür **Celloidin** empfohlen. Das Durchtränken mit Celloidin, wie es heute geübt wird (namentlich bei der Erforschung der nervösen Centralorgane), wird folgendermafsen bewerkstelligt:

Man stelle drei Lösungen dar: 1. Celloidin koncentrierte Lösung in absolutem Alkohol und Schwefeläther zu gleichen Teilen von der Konsistenz eines dicken Syrups, ein Teil dieser Lösung wird auf das doppelte Volumen mit Äther verdünnt, Lösung 2; ein Teil der Lösung 2 wird abermals auf das zweifache Volumen mit Äther verdünnt, Lösung 3.

Objekte, die in Celloidin eingebettet werden sollen, kommen aus dem absoluten Alkohol in Schwefeläther, worin sie nicht zu lange, wenn möglich nicht über 24 Stunden, belassen werden. Aus dem Äther kommen die Stücke, also etwa Rückenmark eines erwachsenen Menschen auf 6 bis 8 Tage in die 3. Lösung, aus dieser in die zweite auf ebenso lange Zeit und aus der 2. in die 1. Lösung auf halb solange. Es werden nun die Stücke in dieser letzteren Lösung eingebettet, und zwar in der Weise, dafs man die Stücke in eine Papierschachtel mit einer genügenden Menge koncentrierter Celloidinlösung giefst; die Oberfläche wird nach einiger Zeit fester durch Verdunstung des Äthers und Alkohols, worauf man die Schachtel vorsichtig in 80%igen Alkohol überträgt, worin die definitive Härtung des Ganzen erfolgt, oder man drückt das betreffende Stück, welches man aus der Celloidinlösung nimmt, auf einen Holz- oder Korkklotz an, etwa mit dem Finger, oder indem man es mit Nähfaden u. dgl. festbindet. Ist das Celloidin unter einer Glasglocke nach einigen Stunden härter geworden, so überträgt man das Ganze (Kork und Präparat) in ein mit 80%igem Alkohol gefülltes Gefäfs und sorgt dafür, dafs das ganze Präparat unter dem Spiritus liegt, was man am besten dadurch erzielt, dafs man das Gefäfs mit Flüssigkeit ganz auffüllt; in diesem Falle, nachdem das Gefäfs zugepfropft ist, liegt das Präparat sicher unter der Flüssigkeit und bleibt in derselben ein paar Tage, worauf entweder gleich geschnitten werden kann, oder die Präparate bis zur Verwendung in 70%igem Spiritus aufgehoben werden.

[§ 132] Für die Beurteilung der später einzuschlagenden Operationen behalte man im Auge, dafs Celloidin in starkem Alkohol und namentlich in absolutem leicht löslich ist. Sehr viele ätherische Öle, in erster Linie das viel gebrauchte Nelkenöl, lösen Celloidin, dagegen nicht Bergamottöl, Origanumöl, Cedernholzöl.

[§ 133] Als Aufhellungsmittel für Celloidinpräparate wurde

unsres Wissens zuerst von Hauptmann Urban die koncentrierte Karbolsäure vorgeschlagen.

[§ **134**] Dies wurde von Weigert mit Erfolg in der Weise modifiziert, dafs er auf ein Volumen Karbol drei Volumina Xylol nimmt, und um das Ganze wasserfrei zu erhalten, verfährt er wie beim absoluten Alkohol (siehe § 110), indem er geglühtes Kupfervitriol auf den Boden des Gefäfses bringt.

[§ **135**] Um die Vorteile, welche Celloidin- und Paraffindurchtränkung bieten, zu vereinigen und womöglich die Fehler beider zu vermeiden, hat man versucht, ein Objekt zunächst mit Celloidin und das so gewonnene Stück nachträglich noch mit Paraffin zu durchtränken. Celloidin-Paraffindurchtränkung.

Zu empfehlen für sehr zarte Objekte, für welche in Toluol und Thermostat ein Schrumpfen befürchtet wird.

Die Methode besteht darin, dafs man sich zuerst folgende Lösungen anfertigt:

Eine Mischung gleicher Teile absoluten Alkohols und Äthers: Alkoholäther.

Eine gesättigte Lösung von Celloidin in Alkoholäther: Urlösung.

Aus der Urlösung, welche nicht direkt zum Durchtränken, sondern nur zum Anfertigen der Lösungen gebraucht wird, bereite man sich:

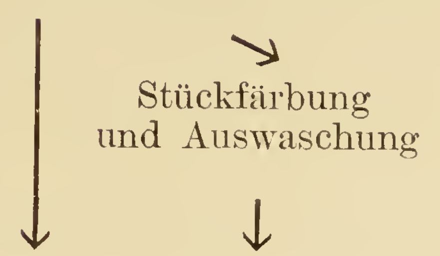
1. Urlösung und zwei Teile Alkoholäther,
2. ein Teil der Lösung 1 verdünnt mit 2 Teilen Alkoholäther,
3. ein Teil der Lösung 2 verdünnt mit 2 Teilen Alkoholäther.

Das Objekt kommt aus 90%igem Alkohol je 24 Stunden in absoluten Alkohol, dann in Alkoholäther, in Lösung 3, in Lösung 2, schliefslich in Lösung 1; in letzterer wird das Objekt eingebettet (24 Stunden offen oder halb zugedeckt stehen lassen). Die ausgeschnittenen Celloidinplättchen kommen in 70%igen Alkohol 24 Stunden, dann in 90%igen 12 Stunden. Darauf bringt man sie in eine Mischung von Origanumoel und 1/3 Volumen 90%igen Alkohol, dann nur kurze Zeit (einige Stunden) in reines Origanumöl, nun in Origanumöl und 1/3 Volumen Xylol, in reines Xylol, weiter im Thermostat: Xylol-Paraffinmischung, reines Paraffin, Einbetten wie oben (§ 124 ff.).

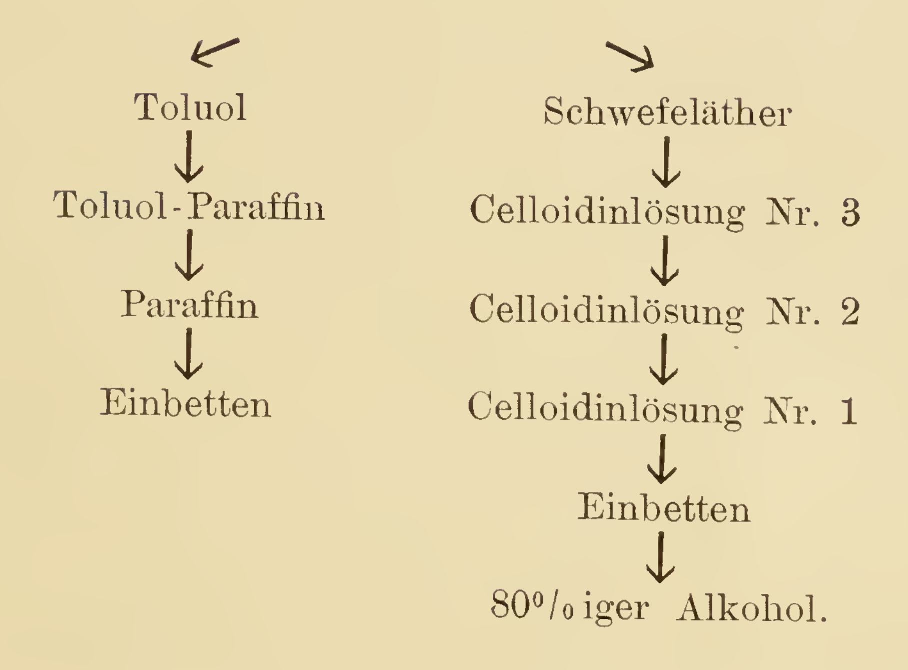
[§ **136**] Um dünnere Schnitte zu gewinnen, empfiehlt es sich, vor jedem Schnitt die Schnittfläche mit einer dünnen Kollodiumschicht zu überstreichen, diese erstarren zu lassen und dann zu schneiden.

[§ 137] **Schema für Durchtränkung.**

90%iger Alkohol.



Absoluter Alkohol.



3. Kapitel.

Mikrotom.

[§ 138] Um das Schneiden von der geringeren oder gröfseren Geschicklichkeit des einzelnen unabhängig zu machen, wurde eine Reihe von Apparaten konstruiert, welche den Namen **Mikrotom** führen. Diese Apparate, sehr verschieden gebaut, haben das gemeinschaftlich, dafs das Präparat durch eine Vorrichtung nach jedem Schnitt um so viel gehoben wird, als die Dicke des nächsten Schnittes betragen soll. Dies wird erreicht z. B. bei dem Jungschen Mikrotom durch eine schiefe Ebene, auf welcher das Präparat bewegt wird, während das Messer in derselben Ebene bleibt, bei anderen dadurch, dafs das Präparat direkt durch eine Mikrometerschraube, auf der es befestigt ist, gehoben wird. Bedingung ist nun für das Schneiden, dafs stets nur so viel durch das Messer weggenommen wird, als das Objekt eben gehoben wurde. Dies geschieht bei manchen Mikrotomen dadurch dafs das durch die Hand geführte Rasiermesser einer festen Unterlage aufliegt, welche verhindert, mehr wegzunehmen,

als was eben über diese Unterlage hervorragt. Bei anderen Mikrotomen ist das Messer an einem Block befestigt, welch letzterer auf Schienen bewegt werden kann. Das Messer beschreibt so bei jeder Bewegung wieder denselben Weg und nimmt jedesmal das, um was das Objekt gehoben wurde, weg. Die letzteren sind die sogenannten **Schlittenmikrotome**.

[§ **139**] Wieder bei anderen Mikrotomen steht das Messer fest und das Objekt wird durch einen Hebel an demselben vorbeibewegt.

Ein vorzügliches Schlittenmikrotom baut Jung in Heidelberg. Dieses liegt der nun folgenden Beschreibung zu Grunde.

[§ **140**] **Bestandteile des Jungschen Mikrotoms.**

Das Stativ desselben ist aus vier Metallplatten zusammengesetzt. Die erste liegt als Fufs auf dem Tisch, senkrecht zu derselben ist auf derselben eine zweite befestigt. An den beiden Seiten der senkrechten verläuft je eine Platte unter einem nach oben offenen spitzen Winkel. In diesen beiden Winkeln kann jederseits ein schwerer metallener Keil eingesetzt werden. Diese füllen den Winkel genau aus und können auf an den Platten befindlichen Schienen verschoben werden. Die Keile laufen, um die Reibung zu vermindern, auf Knöpfen. Diese Keile werden Schlitten genannt. Rechts befindet sich der das Messer tragende Schlitten, der **Messerschlitten**, links der das Objekt tragende **Objektschlitten**.

[§ **141**] Das Messer wird am **Messerschlitten** in zum Tisch wagrechter Richtung durch eine Schraube befestigt.

[§ **142**] Die neueren Messerschlitten tragen meist mehrere Bohrungen zur beliebigen Befestigung des Messers.

[§ **143**] Zu empfehlen sind M e s s e r h a l t e r, welche in die Schraube eingespannt werden können. Das Messer kann im Messerhalter in verschiedenen Stellungen durch Klemmschrauben befestigt und dadurch die ganze Länge der Schneide ausgenutzt werden. Es ist dann möglich, wenn eine Stelle des Messers nicht mehr gut schneidet, dasselbe zu verschieben.

[§ **144**] Die Messer, welche ohne Messerhalter befestigt werden sollen, besitzen an ihrem Ende einen Griff, in welchen die Halteschraube pafst.

[§ **145**] Der **Objektschlitten** trägt den Objekthalter. Der Objekthalter ist eine Klammer, welche an einem Stift durch die Halteschraube höher oder tiefer gestellt werden kann. In dieser Klammer wird das Objekt resp. der Kork oder Holzklotz, auf welchem dasselbe aufgeklebt ist, durch eine Schraube befestigt. Eine Gegenschraube gestattet die Klammer, welche auch noch durch eine starke Feder geschlossen wird, zu öffnen.

[§ 146] An Stelle der eine Klammer tragenden Objektschlitten wurden solche konstruiert, welche eine Drehung des Objekts nach allen Seiten und Feststellung desselben in einer beliebigen Lage gestatten. Orientierungsapparate. Ein solcher ist für feinere, speciell embryologische Untersuchungen unentbehrlich.

Der Orientierungsapparat des Jungschen Mikrotoms besteht aus zwei in einander befindlichen Rahmen, welche um zwei auf einander senkrecht stehende Achsen durch Schrauben bewegt werden und in jeder beliebigen Stellung festgestellt werden können.

Im inneren Rahmen wird das auf einem Cylinder aufgeschmolzene Objekt befestigt. Der Cylinder, mit ihm das Objekt, kann gehoben oder gesenkt werden, auch ist er um seine Längsachse drehbar.

[§ 147] Wird nun der Messerschlitten bei ruhigstehendem Objektschlitten durch die Bahn geführt, so wird er ein über Messerhöhe hervorragendes Stück des Objekts abschneiden. Nun wird der Messerschlitten zurückgeschoben. Die Bahn des Messerschlittens ist überall in gleicher Höhe vom Tisch entfernt. Die Bahn des Objektschlittens steigt dagegen allmählich an; wird daher der Objektschlitten etwas vorwärts geschoben, so wird das Objekt etwas höher, es wird demnach, wenn der Messerschlitten wieder durch die Bahn bewegt wird, ein Schnitt abgeschnitten und so fort.

Eine einfache Überlegung zeigt sofort, dafs der vielleicht auftauchende Gedanke, es könnte sich hier nicht um plattenförmige Schnitte, sondern um keilförmige handeln, unrichtig ist.

Wie weit der Objektschlitten vorgeschoben wurde, kann an einer Skala mit Nonius abgelesen werden. Daraus kann mit Berücksichtigung der Steigung der Bahn die Schnittdicke berechnet werden. Da die Steigung für jedes Mikrotom bekannt ist, so kann man direkt die Schnittdicke ablesen.

[§ 148] Eine genaue Bestimmung der Schnittdicke würde dies jedoch noch nicht zulassen, da ja die Verschiebung des Objektschlittens durch die Hand immer eine unregelmäfsige sein wird. Es ist daher wesentlich für Bewegung des Objektschlittens eine Mikrometerschraube, welche an einem dritten in der Messerschlittenbahn befindlichen Schlitten befestigt ist. Dieser Schlitten wird dem Objektschlitten näher geschoben, bis die Spitze der Mikrometerschraube den Objektschlitten berührt. Die Spitze der Mikrometerschraube ruht dann auf einer Achatplatte des Objektschlittens. Dann wird der die Mikrometerschraube tragende Schlitten mittels einer Halteschraube befestigt.

[§ **149**] Wird nun die Mikrometerschraube um ein bestimmtes gedreht, wie weit, kann an einer an derselben befindlichen Trommel abgelesen werden, so wird der Objektschlitten um ein bestimmtes vorgeschoben, das Objekt damit um ein bestimmtes gehoben, und aus der Gröfse der Drehung der Mikrometerschraube ergibt sich nach ihrem, für jedes Mikrotom bestimmten Umdrehungswert die Schnittdicke. Diese beträgt für das Jungsche Mikrotom für eine Umdrehung der Mikrometerschraube 15 μ.

[§ **150**] Diese Mikrometerschraube hat, wie aus dem Angeführten hervorgeht, eine andere Bedeutung, als die Mikrometerschraube, wie sie bei anderen Mikrotomen (z. B. § 159) angewandt wird, indem letztere das Objekt direkt hebt.

[§ **151**] Für die Mikrotome wurden besondere Messer konstruiert von Keilform. Die über das Präparat weggleitende Seite des Messers ist eben geschliffen, die obere hohl.

[§ **152**] Beim Abziehen, wozu besonders konstruierte Riemen geliefert werden, lege man die Hohlseite des Messers ganz auf, dasselbe berührt dann mit Schneide und Rückenkante den Riemen. Die Messer sind nicht wie die Mikrotome durch Ölen (siehe § 163) vor dem Rosten zu schützen, vielmehr bediene man sich dazu des Paraffins. Mit einem Stück reinen Paraffins reibt man die ganze Fläche des Messers ein.

[§ **153**] Um das Rosten zu verhüten, halte man die Messer in Etuis und bewahre sie wie die Mikrotome vor Berührung mit Säuren und Feuchtigkeit.

Nebenapparate des Jungschen Mikrotoms:

[§ **154**] **Gefrierapparat:** Derselbe wird am Jungschen Mikrotom am Objektschlitten befestigt in ähnlicher Weise, wie der Objekthalter und an Stelle desselben. Er besteht aus einer Platte von Metall, auf welche das Objekt gelegt wird, gegen ihre Unterseite wird durch ein Gebläse Äther zerstäubt. Hierdurch wird die Platte stark abgekühlt und das Objekt friert an. Ist dasselbe fest gefroren, so wird in der gewöhnlichen Weise geschnitten.

Nach Benutzung des Gefrierapparates ist eine besonders genaue Reinigung und Ölung des Mikrotoms erforderlich, um Rosten desselben zu verhüten.

Es empfiehlt sich, beim Schneiden viel Flüssigkeit z. B. Chromsäure oder physiologische Kochsalzlösung auf das Messer (nicht auf das Objekt) zu bringen, in welcher dann der Schnitt schwimmt. Dadurch wird das Aufrollen desselben leicht verhindert.

[§ **155**] Um den Druck der Hand bei Führung des Messerschlittens auszuschalten, kann an demselben ein tischwärts ragender Zapfen angebracht werden.

[§ **156**] An manchen Jungschen Mikrotomen laufen die Schlitten statt auf Metallknöpfen auf Elfenbeinfüſschen.

[§ **157**] Eine eingehende Beschreibung weiterer Mikrotome soll hier nicht gegeben werden, da ja eine solche, um verständlich zu sein, den Besitz des betreffenden Instruments voraussetzen würde. Es seien daher hier nur noch einige Namen genannt.

[§ **158**] Das Ranviersche Mikrotom besteht aus einer Platte, über welche ein Rasiermesser mit der Hand weggeführt wird. In der durchbohrten Mitte trägt dieselbe ein Loch, welches in einen Hohlcylinder führt, darin steckt das Objekt. Was über die Platte hervorragt, wird abgeschnitten. Die Vorwärtsbewegung des Objekts geschieht durch eine Mikrometerschraube, welche mit einer Platte versehen in dem Cylinder steckt und das Objekt schiebt.

[§ **159**] Das vorzügliche Schanzesche Mikrotom besteht aus einem Messerschlitten, ähnlich dem beim Jungschen beschriebenen. Die Hebung des Objekts geschieht in ähnlicher Weise, wie beim Ranvierschen durch eine Mikrometerschraube mit geteilter Scheibe zum Ablesen. Dieses Mikrotom wird jetzt noch mit einer Reihe von Neuerungen angefertigt, z. B. einem Orientierungsapparat, einer Tauchwanne für Naſsschneiden.

Auch werden bei derartigen Instrumenten die Schienen aus Glas hergestellt, sie können bei Beschädigung weggenommen und durch andere ersetzt werden.

[§ **160**] Die vorzüglichen von Katsch in München angefertigten Schlittenmikrotome zeichnen sich durch eine groſse Hubhöhe vorteilhaft aus und gestatten so, groſse Objekte in ununterbrochener Serie zu schneiden.

[§ **161**] Endlich sind noch die sogenannten automatischen Mikrotome zu nennen.

[§ **162**] **Schneiden mit dem Jungschen Mikrotom.**

[§ **163**] **Ölen.** Das erste bei Benutzung des Mikrotoms ist, daſs die Schienen der Schlittenbahnen mittels eines Pinsels mit einer dicken Ölschicht überzogen werden. Es empfiehlt sich hiefür

4 Teile Knochenöl auf
1 Teil Petroleum.

Die Procedur des Ölens erfordert eine besondere Sorgfalt, da sie die Vorbedingung des ruhigen Ganges des Schlittens ist. Geht der Schlitten schwer, was bald, stets nach 24 Stunden der Fall ist, besonders, wenn man das Mikrotom nicht mit einem Glassturz bedeckt, so darf nicht sofort neues Öl aufgetragen werden, sondern es müssen sorgfältig die Schienen der Schlittenbahnen mit einem Tuche gereinigt werden, dann erst ist frisches Öl aufzutragen.

Die Ölschicht muſs eine dicke sein, so daſs der Messerschlitten, dessen Bahn beim Ölen besonders zu berücksich-

tigen ist, leicht mit dem Finger angestofsen, von selbst durch die Bahn läuft.

[§ 164] **Einspannen des Objekts.** Das in Paraffin eingebettete Objekt (siehe § 124) wird mit einem Messer als Würfel ausgeschnitten. Dann schneidet man von 5 Seiten des Stücks möglichst viel überflüssiges Paraffin weg. Mit der sechsten Seite wird das Stück auf ein in die Klammer des Objektschlittens passendes Stück harten Paraffins, Kork oder Holz aufgeschmolzen. Letzteres geschieht in der Weise, dafs man mittels eines an der Flamme erhitzten Drahtes das Paraffin schmilzt und dann das Stück rasch auflegt. Etwaige Unregelmäfsigkeiten werden noch mit dem heifsen Draht geebnet und das Stück für zehn Minuten in kaltes Wasser gebracht.

[§ 165] Das Befestigen von mit Alkohol gehärteten Stücken, welche direkt, jedoch feucht geschnitten werden können, auf einem Korkstück geschieht mittels Gummi. Stück und Block werden einige Zeit mit der Hand zusammengehalten und kommen dann, um den Gummi zum Erstarren zu bringen, in Alkohol.

Nun wird das Ganze in den Objekthalter fest eingeschraubt, eingespannt.

[§ 166] Am Messerschlitten wird das Messer so befestigt, dafs seine Längsachse einen spitzen Winkel zu der Längsachse des Mikrotoms bildet.

[§ 167] Alle Schrauben müssen fest angezogen werden, so dafs Objekt und Messer unbeweglich mit ihren Schlitten verbunden sind. Beim Einspannen des Objekts mufs besonders darauf geachtet werden, dafs von der Gegenschraube kein falscher Gebrauch gemacht wird.

[§ 168] Jetzt wird das Objekt so weit gehoben, dafs die nach oben gerichtete Seite des Objekts möglichst genau die Höhe des Messers hat. Das Messer wird versuchsweise über das Objekt weggeführt, eventuell der Objektschlitten noch wenig verschoben, bis das Messer fafst.

[§ 169] Grundregel ist: Niemals dürfen dicke Scheiben mit dem Mikrotommesser abgeschnitten werden. Will man z. B. einen Teil des durchtränkten Stückes entfernen, um aus der Mitte des Stückes Schnitte zu bekommen, so geschieht dies entweder mit einem gewöhnlichen scharfen Messer, oder man schneidet mitteldicke Scheiben allmählich mit dem Mikrotommesser ab, indem man den Objektschlitten jedesmal höchstens bis zu einem Teilstrich der Skala verschiebt und abschneidet, so lange, bis man das Gewünschte entfernt hat.

Ist so in richtiger Schnitthöhe eingestellt, so wird mit

einem Messer von den Rändern des Paraffinblocks Paraffin abgeschnitten, so dafs die Schnittfläche des Objekts eine möglichst kleine ist. Es empfiehlt sich hierbei, wenn man mit schief gestelltem Messer schneidet, den Block so zuzuschneiden, dafs die Schnittfläche gegen das Messer eine Spitze bildet, es greift dann das Messer leichter an, doch ist dies unwesentlich. Dann wird der Schlitten mit der Mikrometerschraube an den Objektschlitten so angenähert, dafs die Spitze der Mikrometerschraube die Achatplatte berührt, und der Schlitten wird mit der Halteschraube befestigt. Das Schneiden kann beginnen.

[§ **170**] Beim **Schneiden** führt die rechte Hand den Messerschlitten, indem sie denselben mit zwei Fingern an der dem Schneidenden zugekehrten und der entgegengesetzten Seite anfafst. Niemals darf von oben aufgedrückt werden, da sonst die zwischen Schlitten und Schlittenbahn befindliche Ölschicht verdrängt wird und Schneiden und Schnitt unregelmäfsig werden.

[§ **171**] Die linke Hand führt einen Pinsel, um den Schnitt während des Schneidens zu verhindern, sich aufzurollen.

[§ **172**] Es sind auch sogenannte Schnittstrecker konstruiert worden, dieselben sind jedoch entbehrlich.

Zunächst wird die Mikrometerschraube gedreht, und zwar für den Anfang in der Regel zur Erzielung einer Schnittdicke von 15 μ, bei Jung eine Umdrehung, später 10 μ und weniger, d. h. es wird bei einer Umdrehung der Objektschlitten soviel verschoben, dafs das Objekt um 15 μ höher steht als vorher.

Dann wird der Messerschlitten langsam durch die Bahn geführt, indem, sowie das Messer fafst, mit dem Pinsel der Schnitt gehalten wird, ehe er sich zu rollen beginnt.

Die Pinselführung macht im Anfang viel Schwierigkeit. Einmal sollen die Pinselhaare nicht mitgeschnitten werden. Dann mufs der Schnitt während des Schneidens frei in der Luft gehalten werden, ohne mit dem Pinsel aufs Messer aufgedrückt zu werden. Doch ist die erforderliche Übung bald erreicht.

[§ **173**] Ist so der Schnitt gelungen, so wird derselbe mit einem oder zwei Pinseln oder auch vermittelst einer Nadel oder eines spitz ausgezogenen Glasstäbchens weggenommen, um weiter behandelt zu werden. Dann wird der Messerschlitten zurückgeführt, und zwar durch die ganze Bahn.

Der Messerschlitten mufs stets deshalb durch die ganze Bahn geführt werden, damit eine gleichmäfsige Abnutzung derselben erzielt wird.

[§ **174**] Hat man eine Zeit lang geschnitten, so wird die Mikrometerschraube ihre ganze Bahn durchlaufen haben, sie mufs dann zurückgedreht werden. Dabei ist zu beobachten, dafs die zurückgedrehte Mikrometerschraube den Messerschlitten nicht mehr berührt. Es mufs demnach die Haltschraube des Mikrometerschraubenschlittens gelöst, derselbe in der früher angegebenen Weise vorsichtig an den Objektschlitten angeschoben und dann wieder festgeschraubt werden. Der Objektschlitten darf während der ganzen Operation nicht bewegt werden. Ist dies aus Unvorsichtigkeit doch geschehen, so mufs das Objekt vorsichtig wieder in Schlittenhöhe gebracht werden, wie es in § 168 angegeben wurde.

[§ **175**] Oben ist angegeben, dafs die Messerstellung eine schiefe sein soll, dies ist besonders nötig, wenn ein Objekt schwer zu schneiden ist. Es hat dies den Zweck, dafs die Wirkung des Messers mehr auf Zug als auf Druck beruhe, was das Schneiden erleichtert (siehe § 66).

[§ **176**] Bisweilen empfiehlt es sich auch, das Messer quer zur Längsachse der Bahnen zu stellen. Dadurch wird das sogenannte Bänderschneiden ermöglicht. Hierbei wird der Schnitt nicht vom Messer weggenommen, er bleibt an der Schneide kleben und beim Schneiden wird er Rand an Rand mit dem nun folgenden Schnitt innig verbunden. So kann man eine ganze Reihe von Schnitten an einander kleben lassen. Bänderschneiden ist nur möglich bei kleinen Objekten, nicht zu dicken Schnitten und bei geeigneter Temperatur. Das Bänderschneiden gestattet ein rasches Arbeiten. Nötig ist es, die Oberfläche des das Objekt einschliefsenden Paraffinblocks (am besten quadratisch) so zuzuschneiden, dafs die der Messerschneide und die dem Schneidenden zugekehrte Seite beide der Messerschneide parallel sind.

Das bisher geschilderte Schneiden bezieht sich auf mit Paraffin durchtränkte Stücke, welche trocken geschnitten werden.

[§ **177**] Mit Celloidin durchtränkte Schnitte werden feucht geschnitten, d. h. es mufs vor jedem Schnitt das Stück und das Messer mittels eines Pinsels mit 70 bis 80 %igem Spiritus befeuchtet werden.

Nach dem Feuchtschneiden bedarf das Mikrotom einer besonderen Reinigung, um das Rosten zu verhüten.

[§ 178] **Weiterbehandlung des Schnittes.** Die Weiterbehandlung des Schnittes richtet sich nach dem Medium, mit welchem derselbe durchtränkt war. Paraffinschnitte müssen

zunächst von dem darin befindlichen **Paraffin befreit** werden. An Schnitten von Objekten, welche auf keine Weise gefärbt sind, sieht man auch an den dünnsten nur wenig. Ungefärbte Schnitte müssen daher gefärbt werden, Schnittfärbung. Dann können dieselben zur Aufbewahrung **eingeschlossen** werden.

Es hat sich als praktisch herausgestellt, grofse leicht zerfallende Schnitte, z. B. Drüsen, ebenso zarte Objekte oder Serien, welche geordnet bleiben sollen, vor diesen Manipulationen auf den Objektträger zu befestigen. — **Aufkleben.** Dies bietet u. a. den Vorteil, dafs man eine grofse Anzahl von Schnitten zugleich und daher rascher und gleichmäfsiger behandeln kann.

[§ 179] Der Prozefs der Weiterbehandlung ordnet sich demnach folgendermafsen: Aufkleben, Paraffinbefreiung, Schnittfärbung, Einschliefsung.

4. Kapitel.

Aufkleben.

[§ 180] Es ist zweckmäfsig, schon der Raum- und Zeitersparnis halber, aber namentlich um die Schnitte während der Behandlung vor mechanischen Angriffen möglichst zu schützen, dieselben auf den Objektträger anzukleben.

Auf das Deckgläschen aufzukleben, empfiehlt sich weniger, da dies die Aufklebeoperation wie die Nachbehandlung erschwert.

Je nach der Wahl der Masse, welche zum Aufkleben verwendet wird, richtet sich die nachfolgende Behandlung der angeklebten Schnitte. Ist die klebende Masse in Wasser, Alkohol, ätherischen Ölen u. s. f. unlöslich, so ist selbstverständlich auch die Färbung der bereits befestigten Schnitte nicht ausgeschlossen.

[§ 181] Die gegenwärtig allgemein verbreitete Aufklebemethode ist die von P. Mayer, Giesbrecht und Andres eingeführte mit **Eiweifs.** Möglichst frische Hühnereier, etwa 3 Stück, werden aufgeschlagen, das Eiweifs in eine Schüssel abgelassen, wobei man sorgfältigst die Verletzung der Dotterhaut des Eigelbs zu vermeiden hat. Es wird nun einige Zeit mit einem Holzstabe geschlagen und durch Filtrierpapier filtriert. Da Eiweifs sich ziemlich rasch zersetzt, so ist das Hinzufügen eines Kampherstückchens zu der filtrierenden Flüssigkeit sowohl, als zu dem Filtrat sofort anzuraten. Eiweifs filtriert sehr langsam, man erhält aber doch nach 12 Stunden ein paar ccm Eiweifs. Zu diesem füge man ebensoviel des chemisch reinen Glycerins, dann ebenfalls ein kleines Stückchen

Kampher oder Natriumsalicylat hinzu und bewahre das Ganze in einem gut vor Staub geschützten Gefäfs. Nachdem sich nun Glycerin mit Eiweifs gemischt hat, was man durch Schütteln beschleunigen kann, ist es zum Gebrauche fertig. Beschleunigen kann man das Filtrieren auch, wenn man Eiweifs und Glycerin vor dem Filtrieren mischt; es mufs dann noch einige Zeit mit dem Stab geschlagen werden, ehe es filtriert wird.

Es wird auf einem gut gereinigten Objektträger mit einem feinen Pinsel eine möglichst dünne Schicht des Eiweifses aufgetragen und mit einem sehr reinen dicken Glasstabe geglättet. Auf diese so präparierte Fläche werden die in Paraffin gefertigten Schnitte gelegt und eventuelle Falten, die aber nicht zahlreich sein dürfen, mit einem breiten Pinsel ausgeglichen und dabei so aufgedrückt, dafs sich keine Luftblasen zwischen Schnitt und Eiweifs befinden. Dabei liegt der Objektträger auf dem Tisch.

Will man einen vorgeschriebenen Raum, etwa die Gröfse eines Deckglases vollkommen ausnutzen, so kann man denselben auf einem Stück Papier mit Bleistift oder ähnlichem vorzeichnen und den Objektträger in passender Lage darauflegen. Man gewöhne sich, die Schnitte in Reih und Glied wie Buchstaben und Zeilen im Buche zu legen.

Um die Reihenfolge der Objektträger und eine bestimmte Folge der darauf angeklebten Schnitte sich zu merken, pflegt man dieselben mit auf einander folgenden Zeichen, Nummern oder Buchstaben zu markieren. Dazu bediene man sich am zweckmäfsigsten eines Schreibdiamanten. Bezeichnet wird stets an derselben Stelle des Objektträgers, z. B. in der Ecke rechts unten.

Die sonst üblichen Mittel zur Bezeichnung der Objektträger, wie Tinte, Oelstifte u. s. w. sind nicht zu empfehlen, da sie leicht und namentlich bei eventueller Weiterbehandlung verschwinden.

Ist nun eine gewünschte Menge Schnitte auf der so präparierten Eiweifsfläche sortiert und aufgedrückt, so erwärme man das Ganze bis auf die Koagulationtemperatur des Eiweifses, etwa 70° C. Da aber die Erzielung einer konstanten Temperatur einer speciellen Vorrichtung bedürfte, so ist die folgende Erfahrung von Wert. Läfst man Wasser in einem beliebigen Gefäfse, etwa einem Wasserbade, aufkochen und hält nun den Objektträger in den Dämpfen des kochenden Wassers (indem man die Objektträger etwa auf ein Drahtnetz eines Wasserbades legt) auf etwa ½ Minute, so koaguliert das Eiweifs bei der höheren Temperatur selbstverständlich,

es erleiden aber die Gewebe, aufser vielleicht Knorpel und Knochenlamellen, elastische Platten, die sich gerne werfen, gar keine Veränderung.

Bei einiger Übung kann das Präparat schon nach etwa 10 Sekunden aus dem Dampf genommen werden. Dazu ist notwendig, darauf zu achten, dafs der Dampf direkt auf die Unterseite des Objektträgers einwirkt. Die Erfahrung lehrt, dafs zur Koagulierung etwa 10 Sekunden Dampfeinwirkung genügen, wenn dieselbe eine so starke ist, dafs das Paraffin rasch (nach 2—3 Sekunden) schmilzt.

Weniger empfiehlt sich, namentlich für Anfänger, die Koagulation des Eiweifses über der Spiritus- oder Gasflamme zu bewerkstelligen. Leicht kann hierbei das Präparat durch zu starke Erhitzung beschädigt werden. Jedenfalls ist diese Methode, welche aber ein rasches Arbeiten gestattet, nur mit Vorsicht anzuwenden.

[§ **182**] Die Schnitte kleben nun so fest, dafs z. B. fliefsendes Wasser dieselben nicht wegschwemmt; es können damit alle folgenden Operationen, wie sie im weiteren angegeben werden, vorgenommen werden.

Bestimmten Reagentien dürfen jedoch mit Eiweifs aufgeklebte Schnitte nicht ausgesetzt werden, und zwar derartigen, welche Eiweifs lösen und dadurch die Schnitte ablösen würden. Solche sind starke Säuren und Alkalien.

Man. könnte also beispielsweise mit Borax-Karmin 12 bis 24 Stunden färben, ebenso lange mit einem $^1/_2$ $^0/_0$ Salzsäure enthaltenden Spiritus ausziehen, mit Spiritus waschen, mit absolutem Alkohol entwässern und einschliefsen. Wir würden aber beispielsweise das übrigens nur für sehr specielle Zwecke brauchbare Karmin von Schneider (Karmin bis zur Sättigung gelöst in einer konzentrierten Essigsäure) selbstredend aus angedeuteten Gründen (wegen der dabei mitwirkenden Essigsäure) zu vermeiden haben.

Ferner sind es bestimmte Farben, welche Eiweifs ablösen, z. B. Pikrokarmin; andere nur in stärkeren Lösungen, z. B. Benzoazurin.

Bei Besprechung der Weiterbehandlung, vor allem der Färbung, wird es stets angegeben werden, wenn dieselbe ein Aufkleben mit Eiweifs n i c h t gestattet. Sind die Schnitte sehr dünn, unter 8 μ und nicht zu grofs, nicht über 1 qmm, sind sie auch gut auf der Eiweifsschicht mit dem Pinsel geglättet, so kann man den Objektträger mit den Schnitten vorsichtig in ein Gefäfs mit absolutem Alkohol auf etwa $^1/_2$—1 Stunde legen, wobei die Koagulation des Eiweifses, resp. die Befestigung der Schnitte ebenso vollständig wie durch die Wärme erfolgt

[§ **183**] Da diese Befestigungsmethoden der Schnitte auf dem Objektträger von der gröfsten Wichtigkeit sind (man denke nur an sehr zarte, locker an einander liegende, Embryonen entnommene

Gewebsstücke), so soll die erste Methode, von Giesebrecht publiziert, hier Erwähnung finden. Schellackmethode.

Weifser Schellack wird in absolutem Alkohol bis zur Sättigung gelöst; es wird ein Objektträger auf einer Gas- oder Spiritusflamme erwärmt und auf der Oberfläche des erwärmten Objektträgers mit einem dicken, in die alkoholische Schellacklösung eingetauchten Glasstabe eine dünne Schellackschicht erzeugt. Diese Schellackschicht ist nun fast unlöslich in Nelkenöl, ganz unlöslich in Xylol, Benzol und ähnlichem. Bestreicht man die Oberfläche der so präparierten Platte mit einem feinen Pinsel mit Nelkenöl, ordnet die Schnitte ähnlich, wie bei der vorigen Methode auseinandergesetzt wurde, läfst nun in einem auf 50—60° C. gewärmten Thermostat die Objektträger mit den so ausgebreiteten Schnitten einige Stunden (bis zwölf Stunden) liegen, so verdunstet und verharzt das Nelkenöl und die kalt gewordenen Objektträger können nun mit Xylol und ähnlichem, um Paraffin zu lösen, eventuell mit ätherischen Oelen (nicht lange) behandelt und in Canadabalsam eingeschlossen werden.

Chun hat diese Methode vereinfacht, indem er darauf aufmerksam machte, dafs man das Nelkenöl vermeiden kann. Man breite die Schnitte auf der getrockneten Schellackfläche aus, ist man damit fertig, so erwärme man den Objektträger samt den Schnitten auf einer Flamme, bis Paraffin schmilzt; dabei wird auch Schellack ähnlich wie Siegellack u. dgl. Substanzen dick- bis dünnflüssig, und wenn der Objektträger erkaltet, so sind die Schnitte von der hart gewordenen Schellackfläche allseitig umschlossen. Die Schellackmethode könnte man für das Ankleben bereits in toto gefärbter Stücke gebrauchen, wenn nicht der Verdacht vorläge, dafs Schellack im Laufe der Zeit sich verändere, so dafs die Präparate sehr viel an Deutlichkeit verlieren.

[§ **184**] Eine weitere Masse, womit auf dem Objektträger schon vorher gefärbte Paraffinschnitte fixiert werden können, ist die Schällibaumsche. Kollodium 1 Teil mit 3—4 Teilen Nelkenöl gemischt. Mit dieser Mixtur wird der Objektträger dünn angestrichen, die Schnitte darauf geordnet, in einem auf 50—60° C. gewärmten Raum einige Stunden liegen gelassen, bis das Oel sich zu Tropfen sammelt. Diese Procedur kann dadurch verkürzt werden, dafs man den Objektträger samt den Schnitten ein paarmal über einer Flamme hin und herzieht (Lee).

Nach dem Erkalten ist die Anwendung von paraffinlösenden Mitteln wie Xylol u. s. w. zulässig und nun schreite man zum Einschliefsen in Canadabalsam.

[§ **185**] Die einfachste Methode, die aber einer gewissen Vorsicht bedarf und defshalb nicht in den Händen der Anfänger dasjenige leistet, was sie leisten soll, ist die von Gaule und Altmann empfohlene.

Die Fixierung der Schnitte beruht in diesem Falle auf einer Kapillar-Attraktion. Sehr sorgfältig gereinigte Objektträger werden mit destilliertem Wasser oder nicht zu starkem Spiritus gleichmäfsig benetzt. Man breite nun die in Paraffin eingebettet gewesenen Schnitte auf der Wasser-, resp. Spiritusschicht aus, entferne

mit Filtrierpapier die überschüssige Flüssigkeit und lasse die Schnitte, die gut vor Staub geschützt werden müssen, 24 Stunden lang im Thermostat bei 50° C. trocknen. Die so getrockneten Schnitte werden auf einige Minuten auf eine höhere Temperatur über den Schmelzpunkt des Paraffins erwärmt und können nun bei einer gewissen Vorsicht allen möglichen Behandlungen unterzogen werden.

Man kann fixierte Schnitte, sagt Altmann, sogar künstlich verdauen, ohne dafs die unveränderten Teile des Schnittes ihre Lage zum Objektträger im geringsten wechseln.

[§ 186] Schnitte, in Celloidin eingebetteten Objekten entnommen, welche wie im § 177 angegeben wurde, feucht geschnitten werden, können in der bisher angegebenen Weise nicht angeklebt werden.

Eine von Weigert speciell für das Rückenmark ausgearbeitete Methode läfst jedoch auch hier die **Behandlung vieler Schnitte auf einmal** zu.

Die Schnitte werden mit ungeleimtem Papier (Weigert empfiehlt das sogenannte Klosettpapier) in einer bestimmten Reihenfolge aufgefangen, indem man das Papier auf die auf dem Messer befindlichen Schnitte legt, sie bleiben daran haften und das Papier kann behutsam mit dem Schnitt abgenommen werden. Damit der Papierstreifen samt dem Schnitt nicht trocknet, legt man ihn, während man den nächsten Schnitt anfertigt, auf eine mit 70%igem Alkohol befeuchtete Lage von Fliefspapier; mit dem nächsten Schnitt wird in derselben Weise verfahren, bis man eine gewisse Anzahl von Schnitten in einer gewünschten Reihenfolge auf dem Papier erhalten hat.

Es wird nun auf einer entsprechend grofsen Glasplatte sehr dünnflüssiges Kollodium (welches man eventuell mit Schwefeläther verdünnen kann) nach Art, wie es die Photographen thun, ausgebreitet. Wenn die Kollodiumschicht trocken geworden ist (ein paar Minuten genügen), drückt man die Schnitte, indem man über die Papierfläche vorsichtig mit der Hand streicht, an die dünne Kollodiumschicht an. Das Papier kann nun vorsichtig abgezogen werden, die Schnitte bleiben an der Kollodiumfläche in der Regel haften. Dieselben dürfen nicht eintrocknen und müssen deshalb mit 70%igem Spiritus feucht gehalten werden. Es wird eine zweite Kollodiumschicht in einer ähnlichen Weise wie die erste auf der Glasplatte mit den Schnitten, die man zuvor mit daraufgelegtem Fliefspapier getrocknet hat, ausgebreitet. Ist diese zweite Schicht ebenfalls trocken geworden, so mufs man die Platte samt den Schnitten sofort in die Farbe übertragen, wo die Schnitte mit der Kollodiumschicht

von der Glasplatte abgehen und mit einander weiter behandelt werden können. Vor dem Einschliefsen kann man die Kollodiumplatte mit der Schere beliebig zuschneiden.

[§ 187] Die in Celloidin eingebettet gewesenen Schnitte können auf einem gereinigten Objektträger flach ausgebreitet, in Reihen geordnet und mit einem 96⁰/₀igen Spiritus angefeuchtet werden. Ist das geschehen, so werden sie samt dem Objektträger Ätherdämpfen ausgesetzt; die Schnitte kleben nun fest, und sind sie trocken geworden, so können sie ohne weiteres in Canadabalsam eingeschlossen werden. (Auch die Glycerineinschliefsung ist möglich.)

5. Kapitel.

Paraffinbefreiung.

[§ 188] Die Befreiung des Schnitts von Paraffin geschieht durch Lösung desselben in einer der oben (§ 108) angegebenen Flüssigkeiten; billig und wohlgeeignet hiefür ist **Toluol.**

Der Objektträger mit den mit Eiweifs aufgeklebten Schnitten wird auf 3—5 Minuten in ein Glas (siehe § 229) mit Toluol gesteckt. Sollen die Schnitte nicht aufgeklebt werden, so werden sie direkt vom Messer in ein Schälchen mit Toluol übertragen und müssen darin mindestens so lange bleiben, bis sich Paraffin löst, was man mit blofsem Auge sehen kann. Ist das Schneiden beendigt, so können die Schnitte zusammen weiter behandelt werden.

Aus dem Toluol können nicht aufgeklebte Schnitte direkt eingeschlossen werden, vorausgesetzt ist, dafs die Einschlufsmasse dies gestattet, also z. B. nicht wasserhaltig ist, sondern z. B. in Toluol gelöster Canadabalsam.

Mit Eiweifs-Glycerin aufgeklebte Schnitte müssen stets vor der Weiterbehandlung und dem Einschliefsen aus dem Toluol noch in absoluten Alkohol übertragen werden.

Man hat vielfach mit schlechten Resultaten zu kämpfen, wenn man aus dem Toluol direkt in Toluol-Canadabalsam einschliefst, da ja das Aufklebe-Eiweifs mit Glycerin gemischt ist. Dieses, wenn es auch sehr wenig ist, mischt sich nicht mit Toluol und erzeugt Flecken.

6. Kapitel.

Einschliefsen.

[§ 189] Nachdem die Schnitte in der bisher angegebenen Weise behandelt worden sind, können sie direkt untersucht werden. Hiebei empfiehlt es sich, namentlich gefärbte Schnitte in stärker lichtbrechenden Medien zu betrachten, z. B. Toluol, Nelkenöl, Glycerin.

Soll ein nach § 107 mit Paraffin durchtränkt gewesener Schnitt, der sich in Toluol befindet, in Glycerin untersucht werden, so mufs er zunächst in absoluten Alkohol (dann eventuell in Wasser) gebracht werden und dann in Glycerin.

[§ 190] Es ist wünschenswert, Schnitte für spätere Untersuchungen aufbewahren zu können. Dies bleibt jedoch auch bei den besten Methoden nur ein Notbehelf. Die Schnitte werden zu diesem Zweck in eine **Einschlufsmasse** eingeschlossen, welche durchsichtig sein mufs und die Schnitte wie die Farben, womit dieselben gefärbt sind, möglichst wenig verändern soll. Die bisher genannten Medien eignen sich hiezu wenig. Toluol verdunstet rasch, Nelkenöl ändert manche Farben. Glycerin hat sich für viele Fälle zweckdienlich erwiesen.

[§ 191] Bei flüssig bleibenden Einschlufsmassen mufs der Rand des Deckgläschens mit dem Objektträger durch eine Kittmasse verbunden werden: Umranden, um das Abfliefsen desselben zu verhindern.

[§ 192] Die besten Einschlufsmassen sind Harze, welche zunächst in Lösung auf den Schnitt gebracht werden, dann trocknen, fest werden und damit zugleich das Deckgläschen festhalten. Man mufs jedoch im Auge behalten, dafs die Harzmassen ein hohes Lichtbrechungsvermögen besitzen und daher ungefärbte Gewebe sehr wenig deutlich erkennen lassen.

[§ 193] **Einschlufs in Canadabalsam.** Anfertigung des Canadabalsams: Der im Handel käufliche Canadabalsam ist meist in Terpentinöl gelöst. Er mufs in einer Schale zum Trocknen eingedampft werden und wird dann wieder in Toluol gelöst.

Anstatt Toluol können auch andere Lösungsmittel, z. B. Chloroform verwendet werden.

Der so zubereitete Canadabalsam wird in Flaschen aufbewahrt, deren Stopfen einen bis nahe dem Boden der Flasche reichenden Glasstab trägt, um ein tropfenweises Entnehmen des Canadabalsams zu gestatten.

Einschliefsen in Canadabalsam. Der Schnitt, welcher in Toluol oder einer der in § 108 angeführten Flüssigkeiten gewesen sein mufs, wird auf den Objektträger gebracht, ein Tropfen Canadabalsam kommt darauf und ein Deckglas wird unter Vermeidung grofser Luftblasen aufgelegt. Kleine Luftbläschen schaden nicht, sie verschwinden später von selbst.

Aufgeklebte Schnitte kommen, um den darin befindlichen Alkohol zu entfernen, noch einmal in Toluol, dann läfst man abtropfen (nicht trocknen!), bringt einen Tropfen

Canadabalsam darauf und deckt rasch zu. Man mufs sich hüten, den Objektträger anzuhauchen, da das hierbei sich niederschlagende Wasser mit Toluol eine störende Trübung ergibt.

Die Präparate sind in den nächsten Tagen und Wochen bisweilen nachzusehen und, wenn durch Verdunstung des Toluols der Raum unter dem Deckglas nicht mehr gefüllt ist, nachzugiefsen. Dies geschieht, indem man einen Tropfen Canadabalsam an den Rand des Deckglases auf den Objektträger setzt. Man kann durch vorsichtiges Erwärmen des Präparats über der Flamme und vorsichtiges Drücken auf das Deckglas nachhelfen. (Man kann auch die Blasen mit Toluol füllen und dann am Rande Canadabalsam zusetzen, welcher an Stelle des verdunstenden Toluols eingesaugt wird.)

[§ **194**] Sollen Präparate rasch trocknen, und dies kann nötig werden, wenn sie mit Ölimmersionen betrachtet werden sollen und ein Abwischen des Öltropfens ohne Zerstörung des Präparats wünschenswert ist, so können solche Präparate auf etwa 24 Stunden in einen Thermostat von 50° C. ohne Schaden gebracht werden.

Von selbst trocknen die Präparate desto rascher, je dicker der angewandte Canadabalsam war; meist genügen etwa 14 Tage, um die Präparate wenigstens transportfähig zu machen.

[§ **195**] Statt Canadabalsam in derselben Weise kann man Dammarharz anwenden. Dieses letztere, namentlich in Benzin und Terpentinöl zu gleichen Teilen gelöst, hat den Vorzug, nicht so stark wie Canadabalsam aufzuhellen.

[§ **196**] **Einschlufs in Glycerin.** Wird jetzt hauptsächlich angewandt für Schnitte, welche nach der Färbung nicht mehr mit Alkohol in Berührung kommen sollen. Es bietet ferner den Vorteil, dafs es weniger stark Licht bricht und daher ungefärbte Gewebe leichter erkennen läfst.

Auf die Schnitte, welche aus Alkohol oder besser aus Wasser oder Glycerin selbst kommen müssen, wird ein Tropfen Glycerin gebracht und das Deckgläschen aufgelegt. Dann wird, wenn das Präparat aufbewahrt werden soll, umrandet (siehe § 197).

[§ **197**] Die **Umrandung** geschieht, indem man einen dicken Draht über der Flamme erhitzt, mit demselben von der Umrandungsmasse einen Tropfen abschmilzt und diesen zunächst an eine Ecke des Deckgläschens bringt, so dafs er Objektträger und Deckgläschen verbindet, dann an die anderen Ecken und nun die Seiten zuschmilzt, indem man mit dem heifsen Stabe den Tropfen an den Seiten entlang führt. Der Verschlufs soll ein vollständiger sein, dabei aber mufs beachtet werden, dafs der Rand nicht zu weit auf die Fläche des Deckglases übergreift.

Vorbedingung für das Umranden ist, dafs der Tropfen Einschlufsflüssigkeit nicht über den Rand des Deckglases hervorquillt. Ist dies doch geschehen, so mufs er sorgfältig abgewischt werden.

[§ 198] Für runde Deckgläschen (siehe § 46) sind eigene Drehtische konstruiert worden. Auf diese wird der Objektträger so gelegt, dafs das Centrum des Deckgläschens mit der Achse des Drehtisches zusammenfällt, und befestigt; es wird gedreht und mittels eines Pinsels ein flüssiger Lack (siehe § 201) aufgetragen.

Als **Umrandungsmassen** können dienen:

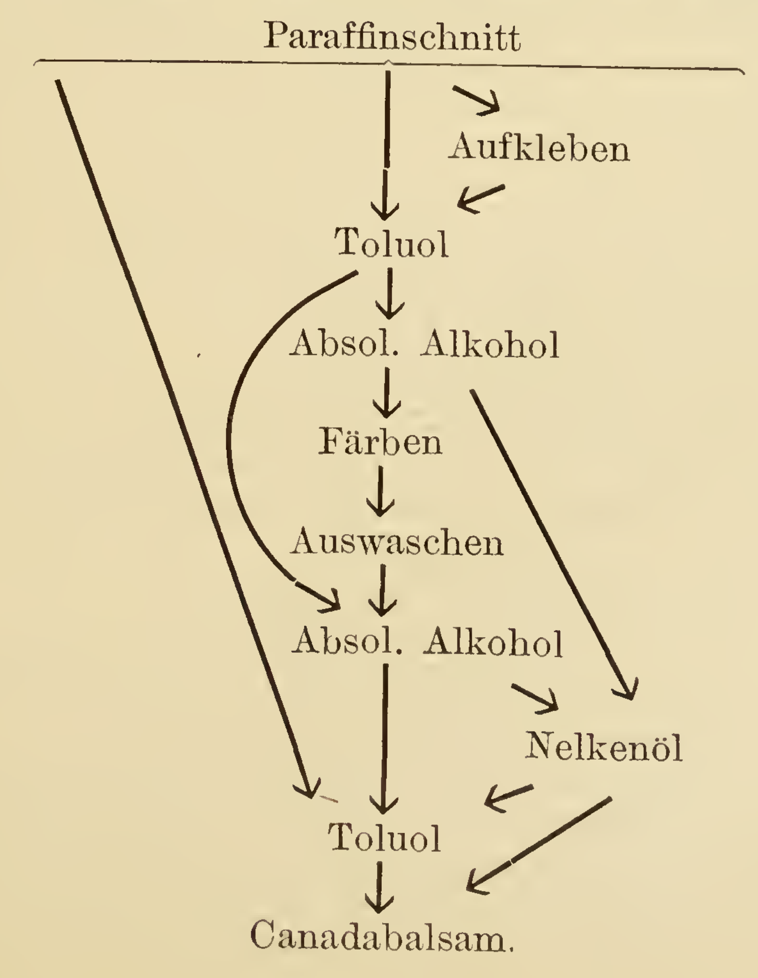
[§ 199] Paraffin. Dasselbe ist nicht zu empfehlen, da es wenig haltbar ist.

[§ 200] Der **Krönig**sche **Lack** ist eine sehr gute Umrandungsmasse. Anfertigung: 2 Teile Wachs werden geschmolzen, hierzu stückweise 7—9 Teile Kolophonium unter Umrühren zugesetzt. (Vorsicht, da die Masse Feuer fangen kann!) Man kann die Masse durch Gaze filtrieren.

Vor Anwendung einer Ölimmersion empfiehlt es sich, den Rand mit alkoholischer Schellacklösung zu überstreichen.

[§ 201] Der Dr. **Kaiser**sche **Maskenlack**, der sich namentlich für das Umranden mit dem Drehtisch empfiehlt, ist käuflich.

[§ 202] **Schema für Weiterbehandlung** des Paraffinschnitts.



7. Kapitel.

Die Färbung.

[§ 203] Betrachtet man einen dünnen Schnitt, welcher in der bisher angegebenen Weise angefertigt und eingeschlossen ist, so sieht man noch sehr wenig, da das Lichtbrechungsvermögen allein die verschiedenen Gewebe nur wenig unterscheiden läſst.

[§ 204] Deutlicher sieht man gefärbte Objekte, z. B. natürliche Färbungen, Pigmente, Pigmentzellen. Viele Fixierungsmethoden färben bestimmte Gewebe in einer Weise, welche dieselben deutlicher erkennen läſst, z. B. Osmiumsäure, Chromsäure, Pikrinsäure.

[§ 205] Mit Vorteil bedient man sich jedoch gewisser Farbstoffe, um die Gewebe zu färben. Man hat schon früh bemerkt, daſs es bestimmte Gewebsteile sind, welche eine Reihe von Farbstoffen mit gröſserer Intensität aufnehmen und festhalten, als andere, solche sind z. B. die Kerne. Kernfärbung.

[§ 206] Um eine gute **Kernfärbung** zu erhalten, ist das Verfahren stets folgendes. Man bringt den Schnitt in die betreffende Farbstofflösung. Nachdem dieselbe eine bestimmte Zeit eingewirkt hat, überträgt man den Schnitt in eine Flüssigkeit, in welche der überschüssige Farbstoff in Lösung geht, z. B. Wasser oder Alkohol, man wäscht den Schnitt aus. Die Kerne sind es dann, welche allein den Farbstoff festhalten, und zwar meist nur ein Teil des Kerns, das Chromatin.

[§ 207] Auſser der reinen Kernfärbung färben viele Farbstoffe, welche zugleich gute Kernfärbemittel sind, mehr oder weniger stark andere Zellteile.

[§ 208] Die Farbstoffe, welche sich am besten bewähren und daher allein angewandt werden, sind:
Karmin, gewonnen von der Cochenilleschildlaus,
Hämatoxylin, gewonnen aus dem Campecheholz (Blauholz),
die Anilinfarben (Teerfarbstoffe)
seltener indigschwefelsaures Natrium.

[§ 209] Die Anilinfarben dienen nicht alle zur Kernfärbung, wohl aber einige derselben, z. B. Safranin, Methylgrün, Bismarckbraun (Vesuvin) und Fuchsin.

[§ 210] Gefärbt werden entweder ganze Stücke vor dem Schneiden, **Stückfärbung** oder Schnitte, **Schnittfärbung.**

[§ 211] Es empfiehlt sich, bei Einübung der Färbetechnik mit dem Böhmerschen Hämatoxylin zu beginnen, und zwar zunächst mit dem Färben nicht aufgeklebter

Schnitte, erst in zweiter Linie mit dem historisch ältest angewandten Farbstoff, dem Karmin, zu färben, hiebei auch die Stückfärbung einzuüben und dann sich mit den verschiedenen Anilinfarben zu befassen. In diesem Sinne ist auch die folgende Besprechung der Färbung gehalten, indem auf die grundlegenden Einzelheiten der Färbetechnik nur bei der Hämatoxylinfärbung eingegangen wird. Wer diese gründlich eingeübt hat, wird sich dann mit den weiteren Färbungen leicht zurechtfinden.

Karminfärbung.

[§ 212] Im Jahre 1858 hat Gerlach eine vorher in Spiritus aufbewahrte kindliche Leiche mit ammoniakalischem Karmin injiziert und dabei gefunden, dafs in der Umgebung der Gefäfse die Kerne und Zellen durch die diffundierte Farbe gefärbt waren. Etwas später hat er die Wahrnehmung gemacht, dafs an vorher mit Alkohol u. s. w. fixierten Schnitten, die in einer schwachen ammoniakalischen Karminlösung längere Zeit verweilen, u. a. sich Kerne färben.

[§ 213] Schon früher haben Hartig und Beale in England eine ähnliche Beobachtung gemacht.

[§ 214] Gerlach hat auch hervorgehoben, dafs lebendes Gewebe sich nicht in dieser Weise dem Farbstoffe gegenüber verhält und dafs erst in der Färbeflüssigkeit abgetötete, resp. vorher fixierte Elemente die Fähigkeit in oben angedeuteter Weise sich zu färben, erlangen.

[§ 215] Herstellung des ammoniakalischen Karmins.

1 g Karmin wird in 100 ccm destilliertem Wasser suspendiert; es wird nun unter beständigem Umrühren Ammoniak hinzugetröpfelt, bis das Ganze durchsichtig, lackfarben wird. In diese Flüssigkeit, die vor der Benutzung filtriert und mit destilliertem Wasser verdünnt werden kann, kommen die Schnitte aus dem Wasser auf 1 Tag (bis auf 2 oder mehrere Tage), werden mit destilliertem Wasser abgespült und nach den gewöhnlichen Regeln in Glycerin resp. Canadabalsam übergeführt. Zeigen die Schnitte aufser der Kernfärbung das übrige dunkel gefärbt, d. h. sind die Schnitte überfärbt, so kann man sich auf eine im § 230 erwähnte Weise behelfen.

Diese Karminlösung kann man für mit Eiweifs aufgeklebte Schnitte nicht verwerten.

Da ammoniakalische Flüssigkeiten die Gewebsteile und namentlich die Kerne sehr stark angreifen, so hat man sich nach anderen Karminlösungen umgesehen.

[§ 216] Herstellung des sauren Karmins.

Eine ammoniakalische Lösung wird mit Essigsäure neutralisiert, resp. etwas übersäuert, denn schwache Essigsäure affiziert die Gewebsteile keineswegs in der Weise wie Ammoniak. Man kann die Neutralisation entweder durch Titrieren bewerkstelligen oder in einer folgenden bequemen und ziemlich genauen

Weise. Zu einer ammoniakalischen Lösung (siehe § 215) wird tropfenweise eine starke Essigsäure (1 Eisessig, 2 Wasser) langsam zugesetzt, bis die kirschrote Farbe in eine ziegelrote undurchsichtige übergeht, was von einem einzigen Tropfen abzuhängen pflegt. Man hat dadurch einen schwachsauren, fast neutralen Karmin gewonnen (Schweiger-Seydel, Fr. Meyer). Die filtrierte schwachrote Flüssigkeit kann nun für schnittweise Färbung, die langsam (24 Stunden) erfolgt, mit ausgezeichnetem Erfolge benutzt werden.

[§ 217] Ist eine Überfärbung eingetreten, d. h. ist aufser den Kernen noch das übrige diffus gefärbt, so kann man sich in der Weise helfen, dafs man die so überfärbten Schnitte mit einer ½%igen Salzsäure, gelöst in 70%igem Spiritus (auch Wasser-Glycerin zu gleichen Teilen) eine längere Zeit, bis 24 Stunden, behandelt. Der Farbstoff ist dann nur an die Chromatinsubstanz der Kerne ausschliefslich gebunden.

[§ 218] Grenachersches Karmin.

Löst man durch Kochen 1—2 g Borax in 100 g Wasser und fügt dann ½—¾ g Karmin zu, so löst sich dieses in kurzer Zeit mit einer dunkel-purpurnen Farbe. Nun setzt man verdünnte Essigsäure tropfenweise (nach dem Erkalten) hinzu, bis die Farbe sich geändert und die einer gewöhnlichen ammoniakalischen Lösung angenommen hat. Man läfst das Ganze 24 Stunden stehen, um alsdann zu filtrieren.

Diese Flüssigkeit färbt in kurzer Zeit diffus, die Schnitte müssen daher in Salzsäure 1 auf 1000 70%igen Spiritus so lange ausgezogen werden, als farbige Wolken den Schnitt verlassen; alsdann werden die Schnitte mit Spiritus abgewaschen und weiter wie gewöhnlich behandelt.

[§ 219] Die Karmine, die jetzt mit Vorliebe benutzt werden, sind die beiden von **Grenacher** angegebenen, Alaun- und Borax-Karmin.

[§ 220] **Alaunkarmin.** Anfertigung. 100 ccm einer 1 bis 5%igen Lösung des gewöhnlichen oder Amoniak-Alauns werden mit ½—1 g Karmin vermengt und ¼ Stunde anhaltend gekocht und dann nach dem Erkalten filtriert.

Färbung: Die Schnitte kommen aus dem Wasser in diese Lösung und sind nach ½ Stunde gefärbt. Ausgewaschen mit Wasser und weiter mit Alkohol etc. behandelt, zeigen sie eine fast ausschliessliche Kernfärbung. Von sonstigen Gewebsteilen nehmen nur Muskeln etwas Farbe an. Sehr wichtig ist es, dafs Alaun-Karmin, auf längere Zeit angewandt, nicht diffus färbt und dafs man es infolgedessen mit dem besten Erfolge zur Stückfärbung, z. B. für Embryonen und andere Gewebsteile gebrauchen kann. Die Lösung schimmelt leicht, es mufs derselben etwas Karbolsäure zugesetzt werden. Zur Färbung gröfserer Stücke besitzen wir zwei Boraxkarminlösungen.

[§ 221] Die **wässerige Borax-Karminlösung** wird folgendermafsen bereitet. 8 g Borax werden mit 2 g Karmin in einem Mörser verrieben und 130 ccm destilliertes Wasser hinzugesetzt. Nach 24 Stunden wird dekantiert und filtriert. Stücke, namentlich mit Sublimat fixierte, ½—1 ccm im Durchmesser, verbleiben in dieser Lösung 24 Stunden, in welcher sie sich nur sehr wenig oder gar nicht verändern. Nun werden sie in eine ½ bis 1%ige Salzsäure in 70%igen Spiritus übertragen und bleiben darin ebenso lange, sie werden dann mit reinem 70%igem Spiritus 1 Tag behandelt, in 95%igen übertragen, durchtränkt und geschnitten. Sie zeigen eine exakte Chromatinfärbung, die mit Safranin wetteifern kann. Eine nachträgliche Färbung zur Doppelfärbung ist selbstverständlich zuläfsig.

Die Lösung ist ein Constituens des von Norris und Shakespeare angegebenen doppelfärbenden Mixtums. (Siehe § 248).

[§ 222] Will man die durchzufärbenden Stücke nicht in Kontakt mit Wasser bringen, so bediene man sich der spirituosen resp. alkoholischen Karminlösung. Die sehr oft gebräuchliche ist die sogenannte **alkoholische Borax-Karminlösung** von Grenacher:

2—3 g Karmin
4 g Borax
93 ccm Wasser

wird zur Lösung gebracht, 100 ccm 70%igen Alkohols zugesetzt, geschüttelt und filtriert. Färbung wie in § 221.

[§ 223] Für Stück- und Schnittfärbung empfiehlt P. Mayer folgende **Karminlösung**:

4 g Karmin werden in 15 ccm Wasser suspendiert, es werden dann 30 Tropfen Salzsäure unter Erwärmen hinzugefügt. Nun kommen 95 ccm Spiritus von 85% hinzu, das Ganze wird aufgekocht und mit Amoniak neutralisiert, nach dem Erkalten filtriert.

Um die Entzündung der Alkoholdämpfe zu vermeiden, ist das Kochen von Spiritus mit Vorsicht auszuüben.

[§ 224] Das Bealsche Karmin besteht aus:

Karmin	0,6
Ätzammoniak	3,75
Glycerin	60
dest. Wasser	60
Alkohol	15.

Karmin wird in Ammoniak unter Schütteln und Erwärmen gelöst; nach dem Abkühlen obige Mengen von Wasser, Glycerin und Alkohol zugesetzt. Diese Karminlösung wird hie und da, namentlich für Stückfärbung angewandt.

[§ 225] Das Lithion-Karmin von Orth. 2 g Karmin werden gelöst in 100 g gesättigter Lithium carbonicum-Lösung. Dieses Karmin färbt diffus und die Differenzierung erfolgt in einem 1 % salzsauren 70 %igen Spiritus. Für mit Eiweifs aufgeklebte Schnitte nicht brauchbar.

Hämatoxylinfärbung.

Hämatoxylin hat eine sehr mannigfache Anwendung gefunden, zur Färbung von Kernen und als Färbemittel für andere bestimmte Zwecke.

[§ 226] Böhmer'sches Alaunhämatoxylin.

Zubereitung: Die Böhmersche Vorschrift ist nach Frey folgende: 0,35 Teile Hämatoxylin werden in 10 Teilen absoluten Alkohols gelöst. Eine zweite Lösung besteht aus

0,1 Alaun und
30 destillierten Wassers.

Man bringt einige Tropfen der ersteren Lösung in letztere, bis sich ein schönes Violett entwickelt.

Ebenso kommt man zum Ziel auf folgende Weise. Man fertige sich an: eine 1 bis 2%ige Alaunlösung in Wasser und eine gesättigte Hämatoxylinlösung in absolutem Alkohol, lasse letztere tropfenweise in erstere einfliefsen, bis eine violette Lösung entsteht. Diese wird beim Stehen dunkelblau und mufs vor dem Gebrauch filtriert werden. Sie mufs ausreifen, d. h. sie kann erst nach etwa 14tägigem Stehen (in offenem, vor Staub geschütztem Gefäfs) verwandt werden.

[§ 227] Färbung. Das Böhmer'sche Hämatoxylin wird zur Schnittfärbung benutzt. Es eignen sich hiefür am besten mit Salpetersäure, Pikrinsäure, Alkohol oder Sublimat gehärteten Stücken entnommene Schnitte, weniger gut solche von Chromsäurepräparaten und solche, welche mit Osmiumsäure oder einem Osmiumsäure enthaltenden Gemisch behandelt wurden. Solche Schnitte können mit Eiweifs aufgeklebt oder nicht aufgeklebt gefärbt werden.

[§ 228] Nicht aufgeklebte Schnitte werden mit Spatel und Nadel in ein Uhrschälchen gebracht, welches etwa 10 ccm Hämatoxylin enthält.

Es empfiehlt sich, die Schnitte aus Alkohol nicht direkt in Hämatoxylin überzuführen, sondern vorher in Wasser oder besser in eine 1 bis 2 %ige Alaunlösung und sie darin einige Minuten zu belassen, da der im Schnitt enthaltene Alkohol mit der Farbe einen Niederschlag gibt, welcher unter Umständen störend wirkt. Aufgeklebte Schnitte können ohne fühlbaren Schaden von abso-

lutem Alkohol in Wasser übertragen werden; bei zarten, nicht aufgeklebten Schnitten empfiehlt sich hier stets, eine oder mehrere Mischungen einzuschalten, z. B. 50% und 70% oder 40, 60, 80% u. dgl., um die die Gewebe lädierenden starken Mischungsströme zu vermeiden.

In Hämatoxylin bleiben die Schnitte 3—5 Minuten in einer gut ausgereiften Lösung. Die Zeit mufs ausprobiert werden, d. h. man mufs bisweilen einen Schnitt herausfangen und in Wasser bringen, um zu sehen, ob er die richtige Farbe hat. Der Schnitt soll hellblau, nicht aber zu dunkel werden.

Hat man so die richtige Färbung bekommen, so werden die Schnitte ausgewaschen, und zwar folgendermafsen: Die Schnitte werden mit Spatel und Nadel herausgefangen und kommen in ein grofses Glas mit gewöhnlichem Wasser. Daselbst geben die Schnitte den überschüssigen Farbstoff ab, welcher als Farbstoffwolken sichtbar wird. Das Wasser mufs so lange gewechselt werden, bis es nicht mehr blau erscheint. Das Auswaschen nimmt bei nicht zu dicken Schnitten 5—10 Minuten in Anspruch. Nun werden die Schnitte in ein kleines Schälchen mit absolutem Alkohol übertragen, von da ab in ein ebensolches mit Toluol.

Namentlich das Übertragen in absoluten Alkohol mufs mit grofser Vorsicht geschehen, damit die Schnitte sich nicht rollen oder falten. Solche Falten bleiben, da die Schnitte in absolutem Alkohol so hart werden, dafs ein nachheriges Glattlegen mit Instrumenten meist eine Beschädigung des Schnittes herbeiführt. Leicht zu korrigieren ist eine solche Faltung dadurch, dafs man den Schnitt zurück ins Wasser bringt, wo die Faltung durch Bewegen des resistent gedachten Schnitts aufgehoben wird.

Aus dem Toluol werden die Schnitte auf den Objektträger gebracht; es kommt ein Tropfen Canadabalsam und das Deckgläschen darauf.

Nelkenöl ist für Hämatoxylin zu vermeiden oder wieder gut mit Toluol auszuwaschen, weil Erfahrungen vorliegen, dafs dasselbe nachteilig auf das Halten der Farben einwirkt.

[§ **229**] Viel einfacher ist die Operation mit a u f g e k l e b t e n Schnitten. Als Gefäfse, in welche die verschiedenen Flüssigkeiten gebracht werden, dienen hier Gläser, welche durchweg für die Färbetechnik auf dem Objektträger angewandt werden. Dieselben sind cylinderförmig, ohne Hals, mit einem Glasstopfen verschliefsbar. Sie sind so hoch, dafs ein hineingestellter englischer Objektträger noch um etwa 5 mm über den oberen Rand hervorsieht. Dieselben dürfen nicht so weit sein, dafs ein hineingestellter englischer Objektträger noch zu Boden fallen kann.

Für die Hämatoxylinfärbung aufgeklebter Schnitte sind notwendig drei solche Gläser, eines mit Hämatoxylin, eines mit absolutem Alkohol und eines mit Toluol gefüllt. Nebenbei bedient man sich eines grofsen Wasserglases mit Wasser zum Auswaschen.

Der Objektträger, auf welchem die Paraffinschnitte nach § 181 mit Eiweifs aufgeklebt sind, kommt zunächst in das Glas mit Toluol, von da in das Glas mit absolutem Alkohol, je etwa fünf Minuten, dann in die Farbe. Auch hier kann Wasser zwischen Alkohol und Farbe eingeschaltet werden.

Das Aufkleben bietet u. a. auch den grofsen Vorteil, dafs man, was bei nicht aufgeklebten Schnitten mit blofsem Auge so schwer zu erkennen war, nämlich den Zeitpunkt, wann die Schnitte richtig gefärbt sind, mit dem Mikroskop beobachten kann. Man verfährt dabei so, dafs man den Objektträger aus der Farbe herausnimmt und in Wasser abspült. Dann trocknet man die Unterseite des Objektträgers mit einem Tuche ab.

Der Anfänger mufs sich hüten, nicht die Seite, auf welcher die Schnitte aufgeklebt sind, abzutrocknen und so dieselben zu verlieren. Davor schützt einmal, die Objektträger stets mit der Unterseite im Farbglas anzulehnen, dann das Gesicht, und wenn dieses täuscht, das Gefühl. Man kann nämlich leicht, mit dem Finger (nicht die Schnitte selbst, denn diese würden dadurch beschädigt werden, sondern), das in der Nähe der Schnitte befindliche Eiweifs fühlend, die Schnittseite von der glatten Unterseite unterscheiden.

Nun besieht man die Schnitte mit schwacher Vergröfserung, ob die Kerne deutlich hervortreten. Sind sie zu wenig gefärbt, so kommen sie wieder in die Farbe. Sind die Schnitte gut gefärbt, so wird der Objektträger in das Wasserglas gebracht und das Wasser mehrmals gewechselt, dann kommen die Schnitte je auf etwa fünf Minuten in das Glas mit absolutem Alkohol, von da in das Glas mit Toluol.

Will man die Flüssigkeiten, vor allem den absoluten Alkohol längere Zeit benutzen, so lasse man die Objektträger, nachdem sie aus der vorhergehenden Flüssigkeit entnommen sind, abtropfen (aber nicht trocken werden).

Dann kommt ein Tropfen Canadabalsam auf die Präparate, und das Deckgläschen wird aufgelegt. Dann wird sofort die Unterseite und der freie Teil der Oberfläche des Objektträgers mit einem Tuch abgewischt. Auch hier mufs sich der Anfänger hüten, nicht die falsche Seite des Objektträgers mit Canadabalsam und Deckgläschen zu versehen und die Schnitte abzuwischen.

[§ 230] Mit Hämatoxylin ist es möglich, zu stark zu färben, zu überfärben. Ist dies geschehen, so sind die Schnitte dunkelblau geworden. Hier hilft ein Auswaschen in Wasser, auch wenn man es lange fortsetzt, nichts. Wohl aber können die Schnitte noch gut werden, wenn man solche aufgeklebte oder nicht aufgeklebte Schnitte in Wasser bringt, welchem etwas Säure zugesetzt ist, z. B. ein Tropfen Salzsäure auf 30 ccm Wasser. Hier bleiben die Schnitte, bis sie violett geworden sind (einen roten Schimmer bekommen). Dann kommen die Schnitte in Brunnenwasser und werden in der gewöhnlichen Weise weiter behandelt.

Vorzügliche Dienste liefern auch andere Säuren, z. B. Schwefelsäure oder Oxalsäure. Für Oxalsäure hat man sich als Regel zu merken, dafs hier nur mit destilliertem Wasser gearbeitet werden darf, um Krystallbildung zu vermeiden.

Ein analoges Verfahren des Ausziehens überfärbter Präparate mit angesäuertem Spiritus ist auch bei Färbung mit Karmin (siehe 215) anwendbar.

[§ 231] Eine entgegengesetzte Korrektion von z. B. durch zu langes Verweilen in der Säure rot gewordenen Schnitten kann man hervorrufen, indem man dieselben sehr lange in fliefsendes Brunnenwasser bringt, oder rasch, indem man dem Wasser Salmiakgeist zusetzt, z. B. ein Tropfen auf 100 ccm. Die Schnitte werden dann wieder blau.

[§ 232] Was ist nun das Resultat einer gut gelungenen Hämatoxylinfärbung? Intensiv blau gefärbt ist das Chromatin der Kerne. Leicht bläulich in verschiedenen Abstufungen, z. B. die Bestandteile verschiedener Zellen, ziemlich stark färbt sich die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels.

[§ 233] Die **Heidenhainsche Hämatoxylinfärbung** ist eine Stückfärbung. Anfertigung: Eine 1/3 %ige wässerige Lösung von Hämatoxylin wird bereitet. Die Farbe kann frisch verwandt, aber im Licht nicht lange aufbewahrt werden.

Färbung. Die Objekte kommen in die Farbe für 24 Stunden, dann ebenfalls 24 Stunden in eine 1/2 %ige wässerige Lösung von einfach chromsaurem Kalium (Kalium chromicum flavum). Dieses wird durch die auftretenden Farbwolken rasch gefärbt und mufs daher mehrmals gewechselt werden. Dann werden die Stücke in Wasser ausgewaschen und kommen in Alkohol von steigender Koncentration.

Paraffindurchtränkung ist zuläfsig. Bedingung ist Anfertigung feinster Schnitte von 5 μ und weniger. Neben der Kernfärbung erhält man ausgezeichnete Protoplasmafärbung.

Am besten eignen sich für diese Färbung Präparate, welche mit Alkohol, resp. Pikrinsäure (siehe 103) fixiert wurden. Wenn

man eine $^1/_2$ %ige Hämatoxylinlösung und eine $^1/_2$ bis 1 %ige Kaliumsalzlösung nur je eine Stunde einwirken läfst, beide in grofsen Mengen und letztere öfters wechselt, so erhält man nach Apathy eine reine aschgraue Färbung, die auch bei dickerem Schneiden noch deutliche Bilder gewährt.

[§ 234] **Delafieldsches Hämatoxylin.** Um 600 ccm Flüssigkeit zu erlangen, löse man 4 g des krystallisierten Hämatoxylins in 25 ccm absoluten Alkohols. Diese Lösung giefse man in 40 ccm einer koncentrierten wässerigen Ammoniak-Alaunlösung. Nach 3 bis 4 Tagen, während welcher die Flüssigkeit offen in einer Flasche im Lichte stehen gelassen wird, filtriert man und giefst je 100 ccm Glycerin und Methyl-Alkohol hinzu. Nach ein paar Tagen filtriere man abermals; es wird diese Flüssigkeit vor dem Gebrauche gewöhnlich mit Wasser verdünnt.

Färbung wie beim Böhmerschen Hämatoxylin. Schnittfärbung.

[§ 235] Friedländersches Hämatoxylin besteht aus:

Hämatoxylin	2,0
Alkohol	100,0
Aqua dest.	100,0
Glycerin	100,0
Alaun	2,0.

Eventuell kann der Lösung etwas Essigsäure zugesetzt werden, um Überfärbung zu vermeiden (Ehrlich). Färbung: Ein in diese braune Lösung eingelegter Schnitt wird in kurzer Zeit ebenfalls braun gefärbt; der Schnitt wird in destilliertem Wasser ausgewaschen und verändert binnen wenigen Minuten seine Färbung in blau. Stückfärbung gleichfalls möglich.

[§ 236] Das Kleinenberg-Mayersche Hämatoxylin. Man stelle sich eine gesättigte Chlorcalcium- und Alaunlösung in 70 %igem Spiritus dar; diese Lösung wird mit 6—8 Volumina 70 %igem Spiritus verdünnt. Es werden vor dem Gebrauch kleine Quantitäten dieser Lösung mit einigen Tropfen der koncentrierten alkoholischen Hämatoxylinlösung versetzt (3 bis 4 Tropfen auf ein Uhrschälchen).

[§ 237] Renaut empfiehlt Glycerinhämatoxylin. Neutrales Glycerin sättigt man mit Alaun und fügt tropfenweise gesättigte alkoholische Hämatoxylinlösung, etwa $^1/_4$ des Volumens hinzu, bis ein Niederschlag entsteht. Ist zuviel Hämatoxylin ausgefallen, so mufs man Alaunglycerin hinzusetzen. Die so bereitete Flüssigkeit läfst man einige Wochen im Lichte stehen, bis der Alkoholgeruch verschwindet.

[§ 238] Die besonderen Zwecken dienenden Hämatoxylinfärbungen von Weigert, Pal, Kultschitzky siehe § 443 ff.

Anilinfarben.

[§ 239] Für Karmin und Hämatoxylin bestehen für die Zubereitung ganz bestimmte Vorschriften. Anders ist es bei Anilinfarben, da die Färbekraft eines grofsen Teils derselben fast unabhängig von ihrer Koncentration ist. Für einige konnten bestimmte begründete Vorschriften gegeben werden, für andere sei es Regel, stets mit verhältnismäfsig dünnen (nicht koncentrierten) Lösungen lange Zeit zu färben. Ferner fertige man sich zum Aufbewahren nicht ganz wässerige Lösungen an, da man sonst vielfach Schimmelbildung bekommt, was, wenn nicht immer, so doch meistens schadet. Einfach vorzubeugen ist dem, wenn man als Lösungsmittel auf 2 bis 4 Wasser 1 Teil Alkohol zusetzt.

[§ 240] **Safranin** ist ein wertvolles Kernfärbemittel, vor allem für Präparate, welche mit Flemmingscher Lösung behandelt sind.

Safraninlösung wird hergestellt:

1 Teil Safranin
100 Teile Alkohol
200 Teile Wasser.

Schnittfärbung 24 Stunden, dann wird in Alkohol ausgezogen. Zieht man mit Flemmingscher Lösung behandelten Objekten entnommene Schnitte, welche mit Safranin gefärbt sind, mit schwach saurem Alkohol (bis zu $^1/_2$ % Salzsäure) aus, so erhält man nur bestimmte Teile des Kerns gefärbt, Chromatin.

[§ 241] **Methylgrün** ist Kernfärbemittel.

Zubereitung: 1 auf 100 aq. dest. (+ 25 alcoh. abs.); es wird 10 Minuten gefärbt. Für 24stündige Färbung auf das doppelte oder mehr zu verdünnen.

Die Hauptbedeutung des Methylgrüns im Vergleich zu Safranin liegt in seiner besseren Verwendbarkeit zu Mehrfachfärbungen.

[§ 242] **Bismarckbraun.**

Anfertigung: 1 auf 100 Wasser wird aufgekocht und filtiert, dann wird ein Drittel des Volumens absoluter Alkohol zugesetzt.

Färbung: Die Färbezeit ist beliebig, da Bismarckbraun nicht überfärbt; dann auswaschen in Wasser; weiter in Alkohol, Toluol, Canadabalsam, auch Glycerin. — Reine Kernfärbung.

[§ 243] Fuchsin. Anfertigung wie Safranin. Färbung ebenso.

Mehrfachfärbung.

[§ 244] Wendet man bestimmte Farben in Mischung oder nach einander auf denselben Schnitt an, so findet man die überraschende Thatsache, dafs sich nicht etwa alle Gewebsteile des Schnitts in der Farbe der Mischung färben, sondern die einen Gewebsteile mit der einen, andere mit der andern Farbe.

Man benutzt dieses ellektive Vermögen der Gewebe zur Färbung und spricht bei Anwendung von zwei Farben von einer Doppelfärbung, bei mehreren von Mehrfachfärbungen.

Wenn sich ein Schnitt gegen zwei Farben ganz gleich verhält, so ist dies keine Doppelfärbung in unserem Sinne.

Gute Doppelfärbungen geben nur ganz bestimmte Farbenzusammenstellungen, solche haben aber auch grofsen Wert für histologische Untersuchung.

Man kann eine kernfärbende Farbe verwenden und dazu eine Farbe, welche, wenn mit der kernfärbenden Farbe vorgefärbt ist, dann eben das Chromatin nicht färbt, wohl aber den übrigen Teil des Kerns und der Zelle. Solche plasmafärbende Farben sind z. B. Eosin oder Orange.

Einen andern Zweck verfolgt eine Zusammenstellung mehrerer kernfärbender Farben, sie ermöglichen, verschiedene Teile des Kerns oder verschiedene Kernarten aus einander zu kennen.

Man kann auch wieder mehrere Farben der ersten Art mit einer kernfärbenden zusammenstellen und erhält so drei- und mehrfache Färbungen.

Eine Reihe von Farben werden angewandt zu ganz bestimmten Zwecken. Diese werden bisweilen auch zweckmäfsig verbunden mit einer kernfärbenden Farbe.

Im nachfolgenden ist eine Auswahl der wichtigeren Mehrfachfärbungen zusammengestellt, und zwar der Reihe nach: Anwendung verschiedener Farben zugleich mit Karmin, Hämatoxylin, Safranin, Methylgrün.

[§ 245] Als geeignete Farbe zur Doppelfärbung mit Hämatoxylin empfiehlt sich besonders Eosin, mit diesem ist die Doppelfärbung einzuüben (siehe § 251).

[§ 246] **Pikrokarmin.** B e r e i t u n g nach **Ranvier.**

Man giefst in eine gesättigte Lösung von Pikrinsäure in Ammoniak aufgelösten Karmin bis zur Sättigung. Man verdampft die Flüssigkeit bis auf ein Fünftel ihres Volumens auf dem Wasserbade. Nach dem Erkalten setzt sich ein geringfügiger Niederschlag von Karmin ab, der durch Filtration getrennt wird. Bei der weiteren Verdunstung läfst die Mutterlauge das feste Pikrokarmin zurück unter der Form eines krystallinischen Pulvers von der Farbe des roten Ockers. Dieses Pulver mufs sich vollständig in destilliertem Wasser auflösen. Eine einprozentige Lösung ist die geeignete.

Färbung. Zu einem Schnitt wird ein Tropfen des Pikrokarmins auf dem Objektträger zugesetzt und 24 Stunden in feuchter Kammer gefärbt. Der Tropfen wird mit Fliefspapier aufgesaugt und das Präparat mit einem Deckglase bedeckt. Man läfst nun Ameisensäure-Glycerinwasser zufliefsen, und nach ein paar Tagen, oft erst nach einer Woche, ersetzt man dieselbe durch reines Glycerin. Dann kommt es zu einer typischen Differenzierung: die Kerne werden rot, elastische Fasern kanariengelb, Muskeln bräunlich gelb, Bindegewebe rosa, Keratohyalin rot, verschiedene Hornsubstanzen gelb u. s. w.

Andere Karmine, die unter dem Namen Pikrokarmine bekannt sind und namentlich in der Weise angewandt werden, dafs man die gefärbten Schnitte in der gewöhnlichen Weise in Canadabalsam überträgt, liefern niemals eine so vollkommene Differenzierung.

[§ 247] Weigertsches Pikrokarmin.

2 g Karmin werden mit 4 ccm Ammoniak übergossen und bleiben 24 Stunden geschützt vor Verdunstung stehen; es werden dann 200 g wässerige koncentrierte Pikrinsäure zugesetzt und wiederum 24 Stunden stehen gelassen. Es werden nun ganz kleine Mengen Essigsäure hinzugesetzt, die einen sehr geringen Niederschlag verursachen, der auch beim Umrühren nicht verschwindet. Nach 24 Stunden filtriert man. Geht der feine Niederschlag durch den Filter, so setze man Spuren von Ammoniak hinzu, wodurch der Niederschlag gelöst wird.

[§ 248] Boraxkarmin-Indigokarmin (Norris und Shakespeare).

Verwendet wird Indigokarmin-Paste.

Anfertigung:	Karmin	2	werden in der Reibschale
	Borax	8	
	Aq. dest.	130	

gemischt und möglichst gelöst; das Ganze bleibt 24 Stunden stehen, dann wird das Flüssige abgegossen und filtriert.

Ebenso werden behandelt:

Indigokarmin	8
Borax . . .	8
Aqua dest. .	130

Von den beiden Filtraten werden dann je gleiche Teile gemischt.

Anwendung. Nicht aufgeklebte Schnitte (Eiweifs wird durch die koncentrierte Oxalsäure abgelöst) kommen nachein-

ander je 20 Minuten in die Farbe, dann in koncentrierte wässerige Oxalsäurelösung, dann in absoluten Alkohol, eingeschlossen wird: Toluol, Canadabalsam. Die Übertragung mufs direkt von einer Flüssigkeit in die andere in der angegebenen Weise geschehen, es darf nicht z. B. mit Wasser abgespült werden.

[§ 249] Alaunkarmin-Dahlia Westphal (siehe § 309).

[§ 250] Pikrinsäure als zweite Farbe.

Pikrinsäure kann zur Nachfärbung von mit Karmin, Hämatoxylin oder Safranin vorgefärbten Präparaten benutzt werden.

Wird angewandt in schwacher alkoholischer Lösung, dann ausgewaschen in absolutem Alkohol. Färbezeit einige Minuten.

[§ 251] Hämatoxylin, Eosin. Zeitlich getrennte Färbung.

Für diese Doppelfärbung wird zunächst (nach § 227) ein gut gefärbtes Hämatoxylinpräparat soweit hergestellt, bis es gut in Wasser ausgewaschen ist.

Dieses Präparat kommt in eine Eosinlösung auf bestimmte Zeit, und zwar ist die Koncentration der Eosinlösung und die Zeit des Färbens verschieden. Es empfiehlt sich, eine 1%ige Eosinlösung in Wasser anzufertigen.

Für die meisten Objekte genügt es, diese Lösung um das 3 bis 5fache zu verdünnen. Darin bleiben die Schnitte 3—5 Minuten. Bei stärkeren genügt etwa 1 Minute; sowie eben der Schnitt von der Farbe durchdrungen ist, hält er dieselbe fest. Dann werden sie zunächst gut in Wasser ausgewaschen. Dasselbe mufs so lange gewechselt werden, bis es nicht mehr rot erscheint. Nun kommen die Schnitte für 5 Minuten in 96%igen Alkohol, von da 1 Minute in absoluten Alkohol, Toluol, Canadabalsam. Es ist sehr wesentlich, dafs die Eosinfärbung nicht zu stark ist, da ein überfärbtes Präparat undeutlich wird.

Korrektion von mit Eosin überfärbten Präparaten ist möglich durch Ausziehen mit schwächerem Alkohol 70% oder 80%; Zeit: Minuten, eventuell Stunden.

[§ 252] Empfohlen wird von Rawitz, zuerst 24 Stunden mit einer koncentrierten wässerigen Eosinlösung und nach flüchtigem Abwaschen in destilliertem Wasser mit Böhmerschem Hämatoxylin 2—5 Minuten nachzufärben, dann 20—25 Minuten in gewöhnlichem Wasser zu waschen und dann in reinem 96%igem Alkohol zu extrahieren, bis kein Eosin mehr entweicht.

Fixierungsmethode gleichgültig, ausgeschlossen reine Chromsäure.

[§ 253] Hämatoxylin-Eosin-Mischung. Renaut.

Zu seiner Hämatoxylinlösung (siehe § 237) setzt man gesättigte wässerige Eosinlösung zu, bis eine Trübung entsteht. In Alaunglycerin löst sich nur wenig Eosin; will man eine mehr

eosinhaltige Flüssigkeit erhalten, so sättige man Kochsalzglycerin mit Eosin und füge diese Lösung zum Hämatoxylin-Glycerin hinzu.

Will man in Canadabalsam übertragen, so mufs man die so tingierten Schnitte mit eosinhaltigem Wasser und Alkohol behandeln, da sonst Eosin leicht sich löst und also keine Doppelfärbung erzielt wird.

[§ 254] Hämatoxylin-Orange. G.

Rawitz empfiehlt, zuerst 24 Stunden in einer gesättigten wässerigen Lösung von Orange G zu färben, flüchtig in destilliertem Wasser abzuwaschen, mit Böhmerschem Hämatoxylin 2—5 Minuten zu färben, dann 20—25 Minuten in gewöhnlichem Wasser abzuwaschen und in Alkohol von 96% zu extrahieren.

[§ 255] Hämatoxylin-Congo siehe § 477.

[§ 256] Hämatoxylin-Safranin (Rabl).

Man färbe die mit Chromameisensäure oder Platinchloridlösung (siehe § 105) fixierten Schnitte mit Delafieldschen Hämatoxylin nur wenig intensiv, wasche sie mit Wasser und in schwach angesäuertem Alkohol und färbe mit Safranin (filtrierte gesättigte alkoholische Safraninlösung 1 Volumen + 2 Volumina Wasser) 12—24 Stunden (2—4 Stunden genügen in der Regel); darauf werden die Objekte mit absolutem Alkohol so lange behandelt, bis sie keine roten Wolken mehr abgeben.

[§ 257] Hämatoxylin (Heidenhain)-Karmin.

Nach der Heidenhainschen Stückfärbung kann man noch eine gute Kerntinktion erzielen, wenn man beispielsweise wieder im Stück mit Grenacherschem Alaunkarmin färbt oder die Schnitte mit Böhmerschem Hämatoxylin nachfärbt.

[§ 258] Safranin-Anilinblau (Garbini).

Anfertigung:	Wasserlösliches Anilinblau	1 g
	Destilliertes Wasser	100 ccm
	Absoluter Alkohol	1—2 ccm

Safranin wie in § 240.

Die Schnitte kommen 1—4 Minuten in die erste Lösung, dann werden sie mit Wasser abgewaschen und in eine 1%ige Lösung von Ammoniak in Wasser gebracht, bis sie fast völlig ihre Farbe verloren haben. (Vorsicht bei aufgeklebten Schnitten!) Dann kommen sie in eine 0,5%ige Salzsäurelösung auf 5—10 Minuten, dann wird in Wasser ausgewaschen und endlich 4—5 Minuten in Safranin gefärbt; absoluter Alkohol, Nelkenöl, Xylol, Canadabalsam.

[§ 259] Methylgrün-Eosin in Mischung.

1%ige wässerige Methylgrünlösung, davon 60 Teile.
1%ige wässerige Eosinlösung, davon 1 Teil.
Durch Alc. abs. auf 100 Teile zu ergänzen.
10 Minuten färben, in Wasser 5 Minuten auswaschen.
Alc. abs. 1 Minute. Toluol, Canadabalsam.

Bei dieser und der folgenden Färbung ist Methylgrün Kernfärbemittel, die begleitende Farbe Eosin resp. Fuchsin S. färbt andere Zellteile.

[§ 260] Methylgrün kann mit Fuchsin S in Mischung verbunden werden, auf 1%ige wässerige Methylgrünlösung 60, 1%ige wässerige Fuchsin-S-Lösung 20; gefärbt wird, wie im vorigen, aber nur kurz in Wasser ausgewaschen, da das Fuchsin S in Wasser rasch weggeht.

[§ 261] Eine Färbung mit Methylgrün und Safranin nach einander kann für specielle Zwecke zur Differenzierung verschiedener Kerne vorteilhaft sein.

[§ 262] **Methylgrün-Fuchsin S.-Orange. — (Biondi-Ehrlich)** von Heidenhain empfohlen.

Anfertigung: Es werden gesättigte wässerige Lösungen der 3 Farben angefertigt. Dieselben müssen mehrere Tage stehen und öfters geschüttelt werden. Dann werden gemischt:

100 ccm Orange
20 » Fuchsin S.
50 » Methylgrün.

Es empfiehlt sich, die Lösung direkt von Grübler in Leipzig zu beziehen. Färbung: Zur Färbung wird 1 Teil mit 60—100 Teilen Wasser verdünnt. Es wird 24 Stunden gefärbt und dann in Alkohol ausgezogen. Alc. absol. Toluol-Canadabalsam. Geeignet für Sublimatpräparate. Bietet aufser den bei Methylgrün-Eosin und Fuchsin S. erwähnten Resultaten noch Färbung der Blutkörperchen-Orange.

[§ 263] Einige seltener angewandte Anilinfarben, welche für die Färbung Bedeutung haben, sind:

[§ 264] Benzoazurin, von Bonnet empfohlen zur Kernfärbung, namentlich für schlecht konservierte Präparate, welche sich nur schwer färben lassen.

[§ 265] Indulin für specielle Zwecke (siehe § 282).

[§ 266] Methylenblau (siehe § 413, 440).

Nigrosin (siehe § 266).

[§ 267] Tabelle der häufigeren Mehrfachfärbungen.

Karmin.

Pikrokarmin.
Karmin-Hämatoxylin § 257
» -Indigokarmin § 248
» -Dahlia § 309
» -Pikrinsäure § 250.

Hämatoxylin.

Hämatoxylin-Böhmer-Eosin § 251 ff.
» » -Orange § 254
» » -Pikrinsäure § 250
» » -Safranin § 256
» » -Pikrokarmin
» » -Congo § 477
Hämatoxylin-Heidenhain-Karmin § 257.

Safranin.

Safranin-Pikrinsäure § 250
» -Methylgrün § 261
» -Anilinblau § 258.

Methylgrün.

Methylgrün-Eosin § 259
» -Fuchsin S. § 260
» -Fuchsin S. Orange § 262.



Specieller Teil.



1. Kapitel.

Epithelien und Endothelien.

[§ 268] **Frisch** werden die Epithelien durch leichtes Abschaben von der Oberfläche mit einem scharfen Messer gewonnen. Für die Entnahme der Pflasterepithelien ist die Mundhöhle zu empfehlen. Für die Beobachtung der Flimmerepithelien dienen als klassische Objekte die Gaumenschleimhaut der Frösche oder die Kiemenplättchen der Muscheln. Viele in der Harnblase und Kloake des Frosches stets anzutreffende Parasiten haben eine flimmernde Oberfläche.

Bei Beobachtung der Speichelkörperchen achte man auf molekuläre Bewegungen.

Die Untersuchung geschieht zunächst in der physiologischen Kochsalzlösung, und man würde gut daran thun, sich über die Einwirkung der schwachen Säuren und Alkalien auf die Flimmerung zu orientieren.

[§ 269] Zu den besten **Isolationsmitteln** für Epithelien gehört:

[§ 270] der sogenannte 1/3 %ige Alkohol von Ranvier (28 Alc. absol. und 72 Wasser). Nicht allzugrofse Fetzen eines frischen Epithels werden in wenig Flüssigkeit 12 bis 24 Stunden belassen und es erfolgt die Isolation in der Regel schon durch blofses Schütteln oder aber durch Zupfen mit Nadeln auf einem Objektträger. Die Cilien der Flimmerepithelien werden erhalten und die nachträgliche Färbung auf dem Objektträger ist zulässig.

Als weitere Isolationsmittel führen wir an:

[§ 271] Jodserum von M. Schulze (siehe § 72).

[§ 272] Osmiumsäure 1 auf 1000.

Kleine Stücke werden in dieser Flüssigkeit 24 Stunden und mehr belassen, mit Wasser gewaschen und im Wasser selbst oder in Glycerin zerzupft.

[§ 273] Oxalsäure 1 auf 22 Wasser. Anwendung wie die vorige.

[§§ 274, 275] Als weitere Isolationsmittel werden sehr schwache Chromsäurelösungen 1/10 % und ebenfalls sehr schwache 1/2- bis 1%ige Kalium- und Ammon. bichr. -Lösungen gebraucht. Einwirkung etwa 24 Stunden.

[§ 276] Mit starken Kochsalzlösungen, bis 10%, erzielt man namentlich an cylindrischen Epithelien gute Isolationen, und es erscheinen dabei an den basalen Teilen lange fadenförmige, zuweilen sich verzweigende Fortsätze, deren Bedeutung bis jetzt nicht genügend festgestellt ist.

[§ 277] Bei der Beobachtung der Epithelien oder Endothelien von der Fläche frisch sieht man die Zellgrenzen entweder gar nicht oder sehr undeutlich. Um diese hervortreten zu lassen, bedient man sich der sogenannten **Versilberungsmethode.**

Dünne Membranen, Mesenterien, Perikardiumstücke, aufgeschnittene dünne Gefäfse, aufgeblasene Lungenalveolen u. s. w. werden mit destilliertem Wasser kurze Zeit abgespült, um die anhaftenden Blutkörperchen etc. fortzuschwemmen. Sie werden nun in eine ca. 1/2%ige wässerige Höllensteinlösung übertragen und so lange darin belassen, bis die Stücke anfangen, undurchsichtig zu werden. Ist das der Fall, so werden die Stücke aus der Höllensteinlösung in viel destilliertes Wasser übertragen und an einem von der Sonne beschienenen Orte so lange stehen gelassen, bis die Stücke anfangen, sich zu bräunen. Daraufhin werden sie noch einige Male mit destilliertem Wasser tüchtig abgespült und entweder in Glycerin und ähnlichem untersucht, oder aber allmählich in absoluten Alkohol übertragen, wobei für eine geeignete Spannung der Membranen (z. B. Ausspannen mit Nadeln auf einem Kork) Sorge zu tragen ist. An solchen Stücken erscheinen, wenn die Versilberung gelungen ist, die Zellgrenzen, resp. die Kontaktflächen der Zellen schwarz, der Zellleib und die Kerne derselben gar nicht oder wenig tingiert.

[§ 278] Eine nachträgliche Färbung der Kerne, etwa mit Boraxkarmin oder Hämatoxylin ist zulässig. Sie wird am besten nach dem Behandeln mit Alkohol eingeschoben.

[§ 279] In einer Dissertation, die unter Coccius 1854 erschienen ist, hat Flinser darauf aufmerksam gemacht, dafs nach der Aetzung des Hornhautepithels mit einem Höllensteinstift Niederschläge zwischen den Zellen entstehen.

[§ 280] Der Kontakt von gewöhnlichen Blechspateln, eisernen Nadeln, Pincetten etc. mit Silberlösungen ist auf das sorgfältigste zu vermeiden und man kann sich leicht mit improvisierten Instrumenten helfen, die man aus Holz, Horn, Borsten, Stacheln etc. zusammenbaut. Zwei Igelstacheln würden ohne weiteres Nadeln ersetzen, zwei geeignet zugeschnittene Stückchen Holz oder Horn, in der Verlängerung einer gewöhnlichen Pincette festgebunden,

eine breitere dünne Lamelle aus hartem Holz werden in diesem Falle im allgemeinen zum Ziele führen.

[§ 281] Als Lösungsmittel für Silbernitrat kann statt des Wassers eine $\frac{1}{2}$%ige Osmiumsäure oder eine 2- bis 3%ige Salpetersäure genommen werden. Man lasse die Flüssigkeit etwa $\frac{1}{4}$ Stunde einwirken, wasche mit destilliertem Wasser ab, übertrage in Spiritus von 70 %, färbe eventuell nach (Hämatoxylin oder Karmin) und überführe in Canadabalsam nach bekannten Regeln.

[§ 282] Indulin in wässeriger Lösung wurde empfohlen und angewandt an gehärteten Präparaten zur Darstellung der Zellgrenzen, die ähnlich wie bei Anwendung von Silbernitrat gefärbt zum Vorschein kommen.

[§ 283] Behandelt man die überlebenden Gewebe: Mesenterien, Sehnen, kleinere Nerven u. s. w. mit Methylenblau-Kochsalzlösung, so kann man Zellgrenzen von Endothelien resp. Sehnenzellen, Ranviersche Kreuze zur Darstellung bringen.

[§ 284] Um die karyokinetischen Figuren in den Epithelien zu studieren, empfiehlt sich, die Kaulquappen von Fröschen, Kröten, Tritonen (noch günstiger sind die Embryonen von Salamandra maculosa und atra, wegen der bedeutenden Gröfse der Elemente) in der Flemmingschen Lösung (siehe § 95) oder in der von Rabl angegebenen (siehe § 104) zu fixieren. Man färbe mit Safranin (siehe § 240) oder mit Hämatoxylin-Safranin (siehe § 256).

[§ 285] Gute Resultate für diesen Zweck geben auch folgende Fixationsmethoden: Chromsäure (siehe § 81), Salpetersäure (siehe § 83), mit Nachfärbung in Safranin (siehe § 240) oder Karmin (siehe § 221) und Hämatoxylin (siehe § 226).

[§ 286] Belgische Forscher gebrauchen mit Vorliebe und Erfolg entweder als Färbemittel allein, oder als Fixations- und Färbemittel Methylgrün — Eisessiglösung. Methylgrün wird in 2—3 %iger Essigsäure gelöst, die mit 2—3 %iger Essigsäure ausgewaschen und durch Glycerin substituiert wird.

2. Kapitel.

Blut und Lymphe.

[§ 287] Die roten Blutkörperchen können **direkt** untersucht werden. Man gewinnt einen Blutstropfen, wenn man z. B. sich selbst in die Fingerbeere einsticht; bei passendem Druck pflegt der Tropfen hervorzutreten und kann ohne weiteres auf den Objektträger verbracht, mit einem Deckgläschen bedeckt und untersucht werden.

Will man die Geldrollenanordnung der Blutkörperchen erhalten, so mufs man einen grofsen Tropfen entnehmen.

[§ 288] Hat man nicht genügend rasch operiert, so findet man bereits alle Blutkörperchen hochgradig verändert infolge der Verdunstung u. s. w. Bessere Resultate bekommt man, wenn man über die Stichwunde zwei an einander gedrückte Deckgläser hält und den Tropfen nun ausprefst. Er gerät ohne weiteres in den kapillaren Raum und verbreitet sich dort in dünner Schicht. Statt zweier Deckgläser kann man natürlich auch Objektträger und Deckglas in einer passenden Weise kombinieren.

Man sorge dafür, dafs keine weitere Luft zu dem untersuchten Tropfen zutrete, indem man das Deckgläschen mit Öl umrandet.

[§ 289] Hat man genügend unveränderte rote Blutscheiben studiert, so untersuche man zunächst einen Blutstropfen an einem ohne besondere Vorsichtsmafsregeln angefertigten Präparate. Die Blutkörperchen werden zackig, stechapfel-morgensternförmig. Man setze solchen Präparaten Wasser zu; man sieht alsbald, dafs die Blutkörperchen, wo sie vom Wasserstrom getroffen werden, sich zunächst aufblähen. Dann löst sich im Wasser der Blutfarbestoff (Hämoglobin), die Blutkörperchen werden mehr und mehr blafs und entziehen sich dem Auge des Beobachters.

[§ 290] Man setze einem andern Präparate verdünnte Essigsäure zu; die roten Blutkörperchen blähen sich im Momente der Berührung mit der Essigsäure auf, werden zunächst etwas dunkler, um dann rasch den Farbestoff abzugeben.

[§ 291] Man vergesse nicht, auch Galle zuzusetzen, namentlich weil man dabei eine direkte Lösung der Blutkörperchen beobachten kann; sie blähen sich auf und explodieren förmlich.

[§ 292] Für Untersuchung der Blutplättchen braucht man die **Afanassiewsche Flüssigkeit**; 0,6 des trockenen Peptons gelöst in 100 physiologischer Kochsalzlösung. Zu dieser Flüssigkeit wird im Verhältnis von 1:10000, ja sogar 1:20000 Methylviolett hinzugesetzt. Die Mischung wird gekocht. Ein Tropfen dieser Flüssigkeit wird auf der Haut, etwa der Fingerbeere, die vorher gut gereinigt worden ist, deponiert, unter derselben ein Nadelstich gemacht, so dafs das Blut in die Flüssigkeit direkt eindringt, ohne mit Luft in Berührung zu kommen. Diese Flüssigkeit konserviert auch die roten und die weifsen Blutkörperchen.

Da diese Flüssigkeit leicht fault, so müssen die Gefäfse, in welchen sie aufbewahrt wird, vorher sterilisiert, die gekochte Flüssigkeit filtriert und eine unbedeutende Menge von Sublimat oder Karbolsäure zugesetzt werden.

[§ 293] Eine zweite Flüssigkeit, die Blut ebenfalls gut fixiert, ist die sogenannte **Hayemsche Lösung**. Sie besteht aus:

destilliertem Wasser	200 ccm
reinstem Kochsalz	1 g
schwefelsaurem Natron	5 » und
Sublimat	0,5 »

Das frische Blut wird in diese Flüssigkeit direkt eingelassen, ihre Menge soll mindestens das hundertfache des Blutes betragen; die fixierten Elemente senken sich zu Boden. Nach einigen Stunden bis zu einem Tag dekantiert man die obenstehende Flüssigkeit und wäscht den Bodensatz mit Wasser. Man kann mit Eosin, eventuell mit Hämatoxylin nachfärben und in Glycerin einschliefsen.

Da diese Flüssigkeit aufser dem Blut auch andere Elemente fixiert, so kann man dünne, blutgefäfshaltige Membranen und Organe, wie z. B. Mesenterien, Schwänze von Kaulquappen und ähnliches in analoger Weise bearbeiten, wobei Blutkörperchen in einer sehr schönen Weise in situ erhalten werden.

[§ 294] Um **rote Blutkörperchen in Schnitten** (in den Gefäfsen, fixierten Objekten entnommen) zu erkennen, gibt es eine Reihe von Färbemethoden.

[§ 295] Bei der Doppelfärbung mit Hämatoxylin-Eosin (siehe § 251) nehmen die roten Blutkörperchen eine eigentümlich leuchtend rote Farbe an, welche dieselben sofort als solche erkennen läfst.

[§ 296] Wisozky hat das Eosin als Reagens auf Hämoglobin empfohlen in folgender Zusammensetzung:

Eosin	1,
Alaun	1,
Alkohol	200.

Noch besser gelingt diese Reaktion, wenn man die Blutkörperchen vorher ein paar Minuten mit einer 1 %igen Osmiumsäure behandelt (Thanhoffer).

[§ 297] In Chromsäurepräparaten werden die roten Blutkörperchen grün, bei Anwendung der Färbung von Norris und Shakespeare (siehe § 248).

[§ 298] Für Sublimatpräparate empfiehlt Heidenhain die Ehrlich-Biondische Methode (siehe § 262), mittels welcher sich Blut orange färbte.

[§ 299] Zum Studium der **weifsen Blutkörperchen** im Blut der Säugetiere setzt man einem Blutstropfen unter dem Objektträger einen Tropfen Essigsäure zu. Nachdem die roten undeutlich geworden sind (siehe § 289) treten die Kerne der weifsen deutlich hervor.

[§ 300] Amöboide Bewegungen der weifsen Blutkörperchen der Säugetiere kann man sehen, wenn man dieselben einer Temperatur aussetzt, die etwa der Körpertemperatur entspricht; dies geschieht mittels des Wärmetisches. Bei gewöhnlicher Temperatur kann man amöboide Bewegungen der weifsen Blutkörperchen von Amphibien (Frosch, Salamander) beobachten. Noch ausgiebigere Bewegungen sieht man an der Lymphe des gemeinen Krebses.

[§ 301] Um mikroskopische Präparate einer andauernden, bestimmten höheren Temperatur aussetzen zu können, wurden eine Reihe von Apparaten, sogenannte erwärmbare Objekttische konstruiert. Ein einfacher und wohlgeeigneter ist der von M. Schultze angegebene Derselbe besteht aus einer Tischplatte von Messing, welche auf dem Objekttisch des Mikroskops durch Klammern befestigt werden kann. In der Mitte hat dieselbe eine auf das Loch des Tisches passende Öffnung, um die Lichtstrahlen durchzulassen. Ganz in der Nähe des letzteren ist ein Thermometer so befestigt, dafs man stets die Temperatur des Tisches und damit des darauf liegenden Objektes ablesen kann. Seitlich läuft der Messingtisch in zwei Arme aus, unter welche Spirituslampen gestellt werden können. Durch Leitung wird so dem Tisch Wärme zur Erzeugung der gewünschten höheren Temperatur zugeführt.

[§ 302] Einen indirekten Beweis der amöboiden Bewegung der Leukocythen erhält man, wenn man ein kleines Stückchen Hollundermark in den Lymphsack (am Rücken unter der Haut) eines Frosches bringt und die Wunde vernäht. Nach 24 Stunden tötet man das Tier, fixiert das Hollunderstückchen, durchtränkt es mit Paraffin, schneidet und färbt es. Man findet dann dasselbe durchzogen von Leukocythen.

[§ 303] Um die rothen oder weifsen Blutkörperchen dauernd aufzuheben, empfiehlt es sich, eine sehr dünne, auf dem Objektträger ausgebreitete Blutschicht mit Osmiumdämpfen zu räuchern (siehe § 90).

[§ 304] Eine scheinbar rohe Methode, die aber zu guten Resultaten führt, ist die folgende: Eine möglichst dünne Schicht frischen Blutes wird sehr rasch auf einer Spirituslampe getrocknet, mit einem Deckglase bedeckt, das letztere umrandet (siehe § 197) und das Präparat aufgehoben.

Trockenpräparate.

So behandelte Präparate kann man noch nachträglich färben, indem die Blutkörperchen durch das Antrocknen genügend auf dem Objektträger angeklebt sind, um die erforderlichen Operationen zu gestatten.

Sehr dankbar erweisen sich hier die Doppelfärbungen mit Hämatoxylin und nachträglich mit Eosin. Die Kerne erscheinen blau, das übrige Blutkörperchen dunkelrosa.

[§ 305] Eine sehr gute Methode zur Herstellung von **Blutpräparaten** besteht darin, dafs man Blut auf dem Objektträger möglichst dünn ausbreitet und dann den Objektträger auf 10 Minuten in eine **koncentrierte wässerige Sublimatlösung** (siehe § 97) steckt. Dann wird mit Wasser, welches mehrmals gewechselt wird, abgewaschen. Diese Methode fixiert Blut- und Lymphkörperchen gut und gestattet, indem sie gleichfalls anklebt, eine Reihe von Doppelfärbungen (z. B. Hämatoxylin-Eosin, Methylgrün-Eosin resp. statt Eosin Orange u. a. m.).

[§ 306] Ehrlich hat Zellen mit granuliertem Zellleib nach ihrem Färbungsvermögen mit Anilinfarben in verschiedene Gruppen eingeteilt, die er α—ε benennt. Dieselben sind folgende:

[§ 307] 1) Eosinophile oder acidophile Zellen mit α Granulationen. Diese charakterisieren sich durch ihre Verwandschaft zur grofsen Reihe der sauren Teerfarbstoffe, d. h. solcher, in denen die Säure das färbende Prinzip darstellt.

In erster Linie gehört hierher Eosin.

Färbt man Gewebe oder Trockenpräparate von Blut, Lymphe, welche solche Zellen enthalten, mit Eosin und zieht vollständig aus, so halten diese Zellen die rote Farbe noch fest, wenn alles andere farblos geworden ist. Sie färben sich auch mit in Glycerin gelöstem Eosin intensiv; sie kommen vor im Blut, Lymphe und in Geweben.

[§ 308] 2) Zellen mit β-Granulationen tingieren sich mit Indulin. Ehrlich fafst α und β als Modifikation einer Substanz auf; durch Erhitzen wird β in α übergeführt.

[§ 309] 3) Mastzellen (γ Granulationen) färben sich mit Dahlia am besten nach der von Westphal angegebenen Methode.

Alaun-Karmin-Dahlia.

Die von Westphal vorgeschlagene Lösung, die auf Schnitte angewandt wird, welche mindestens eine Woche lang in Alkohol gehärtet worden sind, ist:

Karmin	2	g,
destill. Wasser	200	ccm,
Alaun	2	g.

Das Ganze wird ¼ Stunde lang gekocht, filtriert (Partsch-Grenachersches Karmin) und 1 ccm Karbolsäure hinzugesetzt. Zu dieser Karminlösung werden nun 200 ccm gesättigte Dahlia-Lösung in absolutem Alkohol, 100 ccm Glycerin und 20 ccm Eisessig hinzugefügt. Das Ganze wird umgerührt und einige Zeit stehen gelassen. In dieser Flüssigkeit beläfst man nun die in Alkohol gehärteten Stücken entnommenen Schnitte 24 Stunden und länger und überträgt sie dann auf ebenso lange Zeit in absoluten Alkohol. Die Schnitte entfärben sich, nur die Kerne behalten etwas von der rötlichen Farbe, es bleiben aber intensiv blau die Granulationen der Mastzellen. Material: Interlobuläres Bindegewebe der Leber, Darm etc.

[§ 310] 4) Zellen mit δ-Granulationen Ehrlichs sind nach H. F. Müller mononukleäre Leukocyten, welche Max Schultzes kleinsten und mittelgrofsen, farblosen, einkernigen Blutkörperchen entsprechen.

[§ 311] 5) Neutrophile Zellen. Darstellung des neutralen Farbestoffs nach Ehrlich: 5 Volumina einer gesättigten Säurefuchsinlösung in Wasser, setze unter Umrühren 1 Volumen einer starken Methylenblaulösung und 5 Volumina Wasser zu, lasse einige Tage stehen und filtriere.

Diese Zellen stammen als mononukleäre aus Milz, Lymphdrüsen, Knochenmark und gehen im Blut in polynukleäre über.

[§ 312] Nach Ehrlich sollen die Blutpräparate vor der Färbung einer Temperatur von 120° unterworfen werden, eine Temperatur, die man nicht ohne specielle Vorrichtungen erlangen kann. Diese Vorbehandlung soll aber nach Nikiforoff vollkommen das Eintauchen in eine Mischung von absolutem Alkohol und Äther auf 1—2 Stunden ersetzen. (Alkohol soll ganz wasserfrei sein, was man mit geglühtem Kupfervitriol [siehe § 110] erzielen kann.) Nun werden die Präparate an der Luft getrocknet, und es kann weiter nach Ehrlich gefärbt werden, und zwar mit demselben Erfolge.

[§ 313] Heidenhain empfiehlt die Biondi-Ehrlichsche Färbung (§ 262) zur Unterscheidung folgender Arten von Wanderzellen in Schnitten.

1. Zellen mit einem sehr kleinen, fast farblosen Protoplasmaleibe,
2. mit gröfserem hell-rosa gefärbtem Protoplasma,
3. Körnchenzellen,
4. Zellen mit intensiv dunkel-blaugrünem Kern und intensiv dunkelrotem Protoplasma, (nach der Annahme Heidenhains untergehende Formen).

[§ 314] Um die sogenannten **Hämoglobin-Krystalle** herzustellen, verfahre man folgendermafsen: Man entnehme einem frisch getöteten Tiere, Pferde, Meerschweinchen, etwas Blut und defibriniere es durch Schlagen oder durch Schütteln mit Quecksilber. Das so defibrinierte Blut wird mit Schwefeläther, welchen man tropfenweise zusetzt, längere Zeit geschüttelt, bis die bekannte Lackfarbe auftritt. Dieses lackfarben gewordene Blut darf unter dem Mikroskop keine intakten roten Blutkörperchen mehr zeigen. Der rote Blutfarbestoff ist gelöst. So defibriniertes und lackfarben gewordenes Blut wird in einem flachen Gefäfs auf 12 bis 24 Stunden auf Eis gestellt. Wenn man einen Tropfen auf den Objektträger bringt, ½ Stunde liegen läfst (man kann die Procedur dadurch abkürzen, dafs man den Objektträger gelinde erwärmt), so fängt der Tropfen an zu trocknen, und zwar zunächst am Rande, wo sich ein dunkler, fester Ring bildet. Bedeckt man den Tropfen mit einem nicht allzu-

grofsen Deckglase, so fangen zunächst in der unmittelbaren Nähe des Ringes und an demselben zahlreiche Krystalle sich zu bilden an, deren Entstehen man unter dem Mikroskop schon mit schwacher Vergröfserung direkt beobachten kann.

Das Anfertigen eines Dauerpräparates ist nicht lohnend wegen der Kompliziertheit des hiebei einzuschlagenden Verfahrens.

Man kann diese Krystalle in dickem Canadabalsam sich bilden lassen. Solche Krystalle halten sich monatelang.

[§ **315**) Schliefst man defibriniertes Blut hermetisch in eine Glasröhre, läfst sie in einem Thermostat (40° C.) zwei bis drei Tage liegen, zerbricht das Gläschen und läfst das so behandelte Blut in eine flache Schale ausfliefsen, so bilden sich bald mit blofsem Auge sichtbare Hämoglobinkrystalle.

[§ **316**] Man nehme einen Tropfen Blut und verreibe denselben mit einem ebenso grofsen Tropfen einer Kochsalzlösung (auf die Koncentration kommt es nicht an), etwa mit einer Nadelspitze sorgfältig. Dann erwärmt man vorsichtig, bis ein trockener rostbrauner Rückstand verbleibt, bedecke diesen mit einem Deckglase, lasse Eisessig zufliefsen und bringe durch Erwärmen den Eisessig ein paarmal zum Kochen, wobei darauf zu achten ist, dafs das Deckgläschen nicht abspringt. (Die Procedur des Aufkochens wird wiederholt, indem man die verdunstete Flüssigkeit [Eisessig] durch eine frische ersetzt.) Ist der Eisessig verdunstet, so kann man direkt Canadabalsam unter das Deckgläschen zufliefsen lassen. Es haben sich zahllose braunschwarze Krystalle gebildet, welche in Canadabalsam dauernd aufgehoben werden können. Es sind die **Teichmann'schen Häminkrystalle** (Häminsalzsaures Hämatin).

[§ **317**] Als Verunreinigung kommen amorphe Häminmassen und Kochsalzkrystalle in solchen Präparaten vor.

[§ **318**] Man kann gelegentlich noch ein Derivat des Blutfarbestoffes in apoplektischen Herden, in den gelben Körpern der Eierstöcke u. s. w. antreffen. Es sind rotgelbe Massen, die aus fuchsroten, rhombischen eisenfreien **Hämatoidinkrystallen** bestehen.

Man kann sie in Canadabalsam aufbewahren.

[§ **319**] Um Fibrin auf dem Objektträger darzustellen, lasse man einen Blutstropfen ein paar Stunden in einer feuchten Kammer ruhig liegen, bedecke das Ganze mit einem Deckglase und wasche mit Wasser ab, indem man von der einen Seite des Deckglases Wasser zusetzt und auf der andern Seite mit Fliefspapier absaugt. Sind die meisten Blutkörperchen weggeschwemmt, setze man Jod-Jodkalium hinzu, wodurch sich die Fibrinfädchen und Netze intensiv gelb bis braun färben.

[§ 320] Man kann den **Blutkreislauf** an zahlreichen Objekten studieren. Die bequemsten sind die im Sommer so zahlreich zu habenden Kaulquappen der Frösche und Kröten (auch Tritonenlarven). Der dicke Körper und der Kopf solcher Quappen wird in mit Wasser getränktes Fliefspapier eingewickelt und das Tier so auf den Objektträger gelegt. Die Quappe bewegt sich zunächst lebhaft, fängt aber bald an asphyktisch zu werden und beruhigt sich. In dünnen Membranen, z. B. auslaufenden Rändern und der Spitze des Schwanzes, kann man schon mit mittelstarker Vergröfserung den Blutkreislauf beobachten. Beim gewöhnlichen stets zu habenden Frosch können zahlreiche Stellen für die Beobachtung des Blutkreislaufes zugänglich gemacht werden.

[§ 321] Um Frösche unbeweglich zu machen, pflegt man sie mit Curare zu vergiften. Dieses Gift wirkt bekanntlich auf die motorischen Endorgane der quergestreiften Muskulatur, nicht aber auf die des Herzens und der glatten Muskeln. Auch die sensiblen Bahnen sind frei. Wenn man also einem Frosch eine geeignete Dose in den Lymphsack einspritzt, so wird er nach einiger Zeit bewegungslos, die Herzbewegungen aber, resp. der Blutkreislauf dauern fort.

Da man bis jetzt nur mit dem Extrakt Curare und nicht mit einer rein dargestellten chemischen Substanz arbeiten kann, so ist eine genaue Dosierung eine Unmöglichkeit. Von der sogen. 1%igen wässerigen Lösung wende man etwa 1/10 bis 1/5 g für einen gewöhnlichen Frosch mittlerer Gröfse an. Dasselbe wird in den Rückenlymphsack injiziert. Tritt der erwartete Erfolg nach einer Stunde nicht ein, so wiederhole man die Einspritzung. Eine zu starke Wirkung bei den angegebenen Dosen, die den Stillstand des Herzens herbeirufen, haben wir bisher noch nicht beobachtet.

[§ 322] An einem so präparierten Frosch kann man den Blutkreislauf zunächst an den durchsichtigen Schwimmmembranen ohne weiteres beobachten. Um die Membran zu spannen, zieht man zwei Zehen aus einander und befestigt sie vermittelst zweier sogenannter Insekten- (Karlsbader-) Nadeln über eine in eine Korkplatte mit einem Locheisen gemachte Öffnung. Die Platte wird so grofs gewählt, dafs der Frosch auch darauf Platz hat. Man bringe die Öffnung der Korkplatte über die Öffnung der Tischplatte des Mikroskops und beobachte die Schwimmhaut.

Eine zweite Stelle des Frosches, an dem man den Blutkreislauf in den Papillen, den Muskeln u. s. w. beobachten kann, ist die Zunge. Diese stellt eine fleischige Platte dar, die vorn am Unterkieferwinkel befestigt ist. Man kann sie bequem

aus dem Munde herausziehen und sowohl von der dorsalen, wie ventralen Seite (dabei dreht man den Frosch um), beobachten. Durch Dehnen kann man diese Platte sehr dünn machen und über ein Loch in einer Korkplatte mit Nadeln spannen.

Eine dritte Stelle, die aber einen kleinen operativen Eingriff erfordert, ist das Mesenterium des Frosches. Im unteren Drittel der Axillarlinie der rechten Seite wird ein 1/2 cm langer Hautschnitt gemacht, (man verletze dabei keine Gefäfse, was um so leichter ist, als diese durch die dünne Haut durchschimmern), und zertrenne nun die darunter liegende Muskelschicht durch einen ebenso langen Schnitt. Durch eine in die Öffnung eingeführte Pincette zieht man die Dünndarmschlinge heraus, spannt sie über eine Öffnung im Kork mit Nadeln, die durch die Darmröhre gestochen werden, und das Präparat ist fertig.

Eine vierte Stelle ist die Lunge des Frosches. Man kann auch hier ohne besondere Hilfsmittel zum Ziele kommen. Man wähle Frösche, bei denen die Lungen mit Luft gefüllt sind, wovon man sich durch das Aussehen des Frosches (besonders dick) überzeugen kann. Ist das nicht der Fall, so kann man Luft nachträglich durch eine in den Kehlkopf eingebrachte Kanüle einblasen.

Man mache im oberen Teile der Axillarlinie vorsichtig einen Hautschnitt, den man später allmählich etwas erweitern kann. Man operiere sehr vorsichtig, denn hier liegt eine grofse, geschlängelt verlaufende Vene. Man sieht die vorliegende Muskelschicht, die, bei aufgeblasener Lunge, so dünn ist, dafs man durch dieselbe die grofsen Lungenalveolen sieht, und mache einen 1/2 cm breiten Schnitt schief resp. quer durch die Muskelfasern, wobei es zu gar keinem Blutverlust zu kommen braucht. Die gespannte Lunge schiebt sich hernienartig vor und man bringt sie ganz mit etwas Nachhelfen durch die gemachte Öffnung heraus. Dieser Lungensack kann entweder in einer speciell dazu gebauten sogenannten Holmgreenschen Kammer untersucht werden, oder wenn eine solche nicht zur Verfügung steht, kann man den Sack mit glühender Nadel, um Blutung zu vermeiden, durchstechen, über eine Öffnung vorsichtig spannen und mit glühend gemachten Nadeln befestigen. Um die Teile vor Verdunstung während der Beobachtung zu schützen, befeuchte man mit einer 1/2%oigen Kochsalzlösung und bedecke sie mit einem Deckglase. Die Stellen, an welchen man den Blutkreislauf beobachten kann, sind sehr zahlreich. Man kann, um beim Frosche zu bleiben, die Harnblase, an vielen Stellen quergestreifte Muskeln u. s. w. dazu verwenden. Schwanzpartien kleiner Fische und Fischembryonen, äufsere Kiemen von Tritonen und namentlich die so langen und üppigen äufseren Kiemen der Salamander können gelegentlich, wenn gerade das Material hiezu vorhanden ist, verwertet werden. Auch Keimscheiben vom 2. oder 3. Tage der Vogelembryonen (Hühnchen siehe § 564) können mit Vorteil gebraucht werden.

Man achte bei diesen Untersuchungen auf das Vorhandensein des axialen und Randstromes, auf das Pulsieren in den Arterien u. s. w. Man sieht unter günstigen Umständen die Umkehr des Stromes in den Kapillaren . An den Bifurkationsstellen der Kapillaren bleiben oft die Blutkörperchen hängen und werden ganz enorm (2 bis 3fache Länge) gedehnt. Wird so ein Blutkörperchen wieder frei, nimmt es die ursprünglichen Dimensionen an. (Elastizität.)

An Mesenterien, aber auch in der Lunge, treten alsbald infolge der Vertrocknung, Temperaturschwankungen etc. Zustände auf, die als Anfänge der Entzündung aufgefafst wurden, und man sieht u. a. das Auswandern der weifsen Blutkörperchen durch die Gefäfswände.

3. Kapitel.

Bindegewebe und Fett.

[§ 323] Man fange mit **parallelfaserigem Bindegewebe** an, am leichtesten findet man bequeme Objekte in den Sehnen des Schwanzes einer Maus oder Ratte. Wenn man ein paar Endwirbel des Schwanzes mit den Nägeln samt der Haut abzwickt und die Wirbel durch Ziehen entfernt, so folgen einige dünne, glänzende lange Fäden nach, die Sehnen.

[§ 324] Ein Stückchen solcher Sehne wird mit einer scharfen Schere abgeschnitten und nach der Methode der Halbeintrocknung (Ranvier) auf dem Objektträger gefasert, d. h. es wird mit möglichst wenig Flüssigkeit gezupft, wobei man jedoch sorgt, dafs das Objekt während des Faserns nicht eintrockne, was man am besten dadurch bewerkstelligt, dafs man während des Faserns den Objektträger anhaucht.

[§ 325] In Wasser (Rollett empfiehlt Kalk und Barytwasser zur Darstellung der Fibrillen) untersucht, sieht man gröfsere oder kleinere Komplexe von Sehnenfibrillen und unter Umständen die Fibrillen selbst.

[§ 326] Solchen gefaserten Präparaten setze man etwas von einer z. B. 1 %igen Essigsäurelösung zu; die Fasern, resp. die Fibrillen quellen sehr stark auf und werden zuletzt so durchsichtig, dafs sie kaum mehr zu sehen sind. Deutlich werden dann die Kerne der Sehnenkörperchen.

[§ 327] Kalilauge, namentlich in der Wärme, bringt diese Sehnenfasern und Fibrillen in Lösung.

[§ 328] Grobe Fasern des **elastischen** Gewebes verschafft man sich vom Ligamentum nuchae z. B. eines Ochsen. Das Fasern geht hier bei weitem nicht so leicht von statten; die isolierten Fasern krümmen sich eigentümlich (Bischoffstabform).

[§ 329] Die Reagentien, Essigsäure und Kalilauge wirken auf solche Fasern, in der eben angegebenen Weise angewandt, kaum, elastische Fasern sind sehr resistent namentlich der Kalilauge gegenüber. Diese letztere Eigenschaft kann man mit Vorteil benutzen, um die feinen und feinsten elastischen Fasern zur Darstellung zu bringen. Man verfahre also: Eine dünne Lamelle, z. B. einer frischen Lunge entnommen, wird mit Kalilauge behandelt, nach einiger Zeit — ein paar Stunden — fangen Bindegewebe, Blut u. s. w. an, sich zu lösen, und es bleiben die feinsten Fäserchen, welche die Alveolen umspinnen, übrig.

[§ 330] Das **areoläre** Gewebe wird am besten dem grofsen Netze, z. B. eines Kaninchens, entnommen. Es empfiehlt sich, kleinere Stücke des Netzes zu versilbern (siehe § 277) und alsdann mit Karmin (Pikrokarmin) zu färben. Dabei sieht man, wie die Endothelzellen dicke Maschen bildende Bindegewebsbündel bekleiden.

[§ 331] Um die Elemente der **Cutis** darzustellen, bedient man sich folgender Methode: Einem Hunde wird die Haut leicht abgehoben und eine Silbernitratlösung 1 pro mille subkutan (oder vielmehr subepidermoidal) eingespritzt. Dabei bildet sich eine kleine Ödemkugel, innerhalb welcher die Fasern etwas gedehnt und im gedehnten Zustande fixiert werden. Dabei isoliert man Bindegewebsbündel, elastische Fasern, gut fixierte Bindegewebszellen eventuell Fettzellen. An den Bindegewebsfasern sieht man oft spiralisch verlaufende, einschnürende Fasern, die sich anders verhalten, wie die Bindegewebsfibrillen.

Es wird ein einer solchen Ödemkugel mit der Schere entnommenes Fetzchen auf dem Objektträger sorgfältigst unter der Lupe zerfasert und eingeschlossen, eventuell nach den Regeln von § 246 gefärbt.

[§ 332] Ewald und Kühne unterwerfen die folgenden Gewebe der Trypsinverdauung, z. B. mit einem schwach alkalischen Glycerinpankreasextrakt bei der Temperatur von 35° C.

1) Sehnen zerfallen in einzelne Fascikel oder in Fibrillen; von allen anderen Bestandteilen bleiben nur geschrumpfte Kerne erhalten, die leicht abfallen.

2) Alveoläres Bindegewebe des Mesenteriums verhält sich wie Sehne; Endothelien werden gelöst bis auf die Kerne.

3) Retikuläres Bindegewebe wird in vollkommener Reinheit dargestellt.

4) Hyaliner Knorpel. Die Zellen werden bis auf die Kerne gelöst, die Grundsubstanz stellt ein eigenartiges, etwas körniges Netzwerk dar, von dem Verhalten des Kollagens.

5) Elastischer Knorpel verhält sich wie hyaliner; die elastischen Fasern verschwinden.

6) Elastisches Gewebe wird gelöst.

7) Sogenannte strukturlose Membranen werden vollkommen gelöst.

8) Die Leber ist bis auf die Kerne und das Kollagen vollkommen verdaulich. Das fibrilläre Bindegewebe erstreckt sich bis zur Vena intralobularis.

9) Muskeln werden bis auf die bindegewebigen Bestandteile verdaut.

10) Von den Epithelien der Schleimhaut bleiben nur die Kerne zurück.

11) Bei Schnitten menschlicher Oberhaut fällt zuerst das Rete Malpighi heraus, dann werden Stachelzellen isoliert, hierauf zeigen sich die Zellen der Hornschicht wie hohl mit doppelter Kontur.

Das Trypsin ist also ein Mittel, um aus jedem tierischen Gewebe kollagene Fibrillen und Netze, Hornsubstanz und Kerne zu isolieren.

[§ 333] Man hat Gelegenheit genug, Fettzellen in frischem Zustande an überlebenden Gewebsstücken zu untersuchen, beispielsweise an den Mesenterien kleinerer und auch gröfserer Thiere. Aber auch ein Zupfpräparat eines dem Unterhautbindegewebe entnommenen Stückes liefert genügendes Material.

[§ 334] Das Fett ist so glänzend und die Fettzellen so grofs, dafs die feineren Strukturverhältnisse am frischen Material unmöglich erkannt werden können. Um sich über den Bau einer Fettzelle zu orientieren, ist die im § 331 angegebene subkutane Silbernitratlösung-Injektion zu empfehlen. An den Zupfpräparaten davon erhält man fast konstant isolierte Fettzellen und diese zeigen einen deutlichen Fetttropfen, umgeben (im optischen Durchschnitt) von einem Protoplasmaring, der an einem Zellenpol sich verbreitert und den Kern der Fettzelle einschliefst.

[§ 335] Behandelt man ganz frisch herausgenommene Fettstückchen 24 Stunden lang in einer ½ bis 1 %igen Osmiumsäure, so zeigen die Fettzellen im allgemeinen eine schwarze Färbung. Untersucht man dieselben näher, indem man sie mit Nadeln möglichst isoliert, so bemerkt man einen fast die ganze Zelle ausfüllenden schwarz gefärbten Fettropfen (wir sprechen von der Zelle eines Erwachsenen) und dieser wird umringt (im Sehfelde) von einem Gürtel grauen Protoplasmas und der Membran; das Protoplasma zeigt, wenn die Lage der Zelle eine günstige ist, an einer Stelle eine linsenförmige Verdickung, die den Kern beherbergt. Solche mit Osmiumsäure behandelte Fettstückchen, die längere Zeit in schwächerem

oder stärkerem Alkohol aufgehoben werden, eignen sich nicht mehr zur Demonstration der eben angeführten Verhältnisse und es ist am zweckmäfsigsten, möglichst rasch zu Werke zu gehen. Die in Osmiumsäure fixierten Stücke eines Fettläppchens werden auf dem Objektträger mit destilliertem Wasser gewaschen, gezupft und in Glycerin (siehe § 196) übergeführt, das Deckgläschen umrandet und so ein dauerndes Präparat angefertigt.

Um Fett mit Osmiumsäure nachzuweisen, übertrage man die mit Osmiumsäure behandelten Präparate nicht direkt in Alkohol, weil sie dadurch im ganzen geschwärzt werden. Am besten verfahre man so: Man behandle mit 1 bis 2 %iger Osmiumsäurelösung im Dunkeln, wasche mit destilliertem Wasser aus und übertrage nun in Alkohol, worin erst die intensive Färbung der Fettropfen zum Vorschein kommt.

Das mit Osmiumsäure resp. Osmiumsäuregemischen schwarz gewordene Fett löst sich in Terpentin, Xylol, Toluol, Äther und Kreosot, nicht aber in Nelkenöl und nicht in Chloroform.

Fetthaltige Gewebsteile werden also zweckmäfsig in Paraffin durch Chloroform (siehe § 119) übergeführt.

[§ 336] Untersucht man frische Fettzellen, die mit einem Deckglase bedeckt sind, in Wasser oder indifferenter Flüssigkeit, so gewahrt man, dafs einige oder viele Fettzellen (d. h. die Membranen derselben) zerplatzen und dafs gröfsere oder kleinere Tropfen frei werden. Man kann selbstverständlich die Procedur dadurch beschleunigen, dafs man auf das Deckgläschen (etwa mit einer Nadel) drückt.

4. Kapitel.

Knorpel.

[§ 337] Der Knorpel kann an vielen Stellen, namentlich der hyaline schon **frisch** untersucht werden. Man nimmt zu diesem Zweck entweder den knorpeligen Teil des Hyposternums oder aber des Episternums, aus der Scapula eines Frosches oder auch des Processus xyphoideus kleiner Säuger. Solche dünne Knorpellamellen können mit einem Stück Leinwand von Weichteilen gesäubert und in indifferenter Flüssigkeit (siehe § 70) sofort untersucht werden. Man kann auf diese Weise die Knorpelgrundsubstanz, die Kapseln und die Zellen darin, welche die Kapseln ganz ausfüllen, mit Leichtigkeit sehen.

[§ 338] Aber auch grofse Stücke Knorpel sind der Untersuchung frisch zugängig. Die Konsistenz des Knorpels ist nämlich eine derartige, dafs man ohne Schwierigkeiten

mit einem mit indifferenter Flüssigkeit benetzten Rasiermesser sehr dünne Schnitte anfertigen und ohne weiteres in der indifferenten Flüssigkeit sich ansehen kann.

[§ 339] Auf dieselbe Weise können frische Netzknorpelstücke mit dem Rasiermesser geschnitten (siehe § 66), oder wenn sehr dünn, wie die Ohrmuschel einer Maus, nach der Entfernung der beiden Hautlamellen ungeschnitten untersucht werden.

[§ **340**] Die hyalinen Knorpel haltigen Gewebsteile, welche mit Sublimat gehärtet waren und nachträglich mit Safranin tingiert werden, zeigen eine sehr prägnante Orangefärbung der Knorpelgrundsubstanz. Hämatoxylin färbt dieselbe blau.

[§ **341**] Man kann innerhalb der Grundsubstanz des hyalinen Knorpels die Existenz eines sogenannten Saftkanälchensystems nachweisen entweder durch Höllensteinstift oder durch Chromsäure (Hencke und Budge) oder aber auch durch Äther und Kollodium (Budge).

Um dieses System darzustellen, entnehme man frische Schnitte dem Gelenkknorpel des Fufses eines Ochsen und behandle dieselben mit 25 bis 30 %iger Chromsäurelösung. Schon nach einigen Minuten kommt ein ganzes System von Linien in der Knorpelgrundsubstanz zum Vorschein. Ist das geschehen, so wird der Schnitt mit viel Wasser bis zur vollkommenen Entfärbung ausgewaschen; dann kann mit Eosin oder auch Hämatoxylin nachgefärbt werden. Die Schnitte werden in Glycerin oder auch Canadabalsam aufgehoben.

[§ **342**] Knorpel der Kephalopoden zeigt verzweigte Knorpelzellen, welche mit einander anastomosieren.

[§ **343**] Um Netzknorpel zu untersuchen (Ohrmuschel, Epiglottis etc.) fertige man sich, nachdem man ihn mit Alkohol fixiert hat, dünne Schnitte, welche nun beliebig gefärbt werden können, z. B. Borax-Karmin, Safranin etc.

An solchen Präparaten aber, namentlich in Canadabalsam, sieht man die feinen und dichten elastischen Netze kaum. Um diese darzustellen, kann man die Schnitte aus dem Wasser in eine sehr dünne Jodlösung einlegen, welche in kurzer Zeit die elastischen Netze braun färbt.

[§ **344**] Will man Dauerpräparate anfertigen, so tingiere man solche Netzknorpelschnitte mit Pikrokarmin, es färben sich dann elastische Netze gelb, die Kerne der Knorpelzellen rot.

[§ **345**] Noch mehr empfehlen wir folgende Methode: man tingiere solche Schnitte mit einer wässerigen Säurefuchsinlösung, wasche dieselben längere Zeit in Alkohol aus und übertrage sie nach den allgemeinen Regeln in Canadabalsam, es erscheinen dann die Netze intensiv rot, das Übrige farblos.

Bei dem Jodzusatz achte man auf das Vorhandensein des Glykogens in den Knorpelzellen (es kommt natürlich auch im hyalinen Knorpel vor), welches mahagonibraun erscheint.

[§ **346**] Knorpel bei älteren Individuen, namentlich Rippenknorpel, aber auch Larynxknorpel etc. zeigen Kalkeinlagerungen und müssen daher, nachdem sie fixiert worden sind, entkalkt werden (siehe § 350 ff.).

[§ **347**] Rippenknorpel bieten häufig Material für das Studium von mehreren Tochterknorpelzellen in einer Kapsel.

[§ **348**] Die knorpelhaltigen Organe lassen sich nicht gut mit Eiweifs auf dem Objektträger, namentlich wenn die Schnitte etwas dick sind, aufkleben.

[§ **349**] Der bindegewebige Knorpel wird aus der Zwischenwirbelscheibe etc. entnommen und entweder mit Osmiumsäure oder noch besser mit Pikrinsäure fixiert.

Auch kleinere Stückchen, die in absolutem Alkohol gehärtet worden sind und die dann mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt werden können, zeigen instruktive Bilder.

5. Kapitel.

Knochen und Zähne.

[§ **350**] In der organischen Grundmasse des Knochens sind verschiedene anorganische Substanzen und namentlich Kalksalze enthalten, welche dem ganzen Knochen die Festigkeit verleihen. Will man den Knochen schnittfähig machen, so mufs man diese Kalksalze entfernen, entkalken. Man behandelt zu diesem Zweck den Knochen, auch Zähne mit Säuren, welche an Stelle der Säuren der Kalksalze im Knochen treten. Unter Freiwerden der letzteren entstehen neue Verbindungen, die aber in Wasser resp. Spiritus löslich sind. Auf diesem Princip beruht die Entkalkung.

[§ **351**] Die gebräuchlichsten **Entkalkungsflüssigkeiten** sind die folgenden:

[§ **352**] Salzsäure ½—1%, die oft zu wechseln ist,

[§ **353**] eine 1%igeSalzsäurelösung zu gleichen Teilen mit einer 1%igen Chromsäurelösung,

[§ **354**] koncentrierte Pikrinsäurelösung und Pikrinsalpetersäure, nicht aber Pikrinschwefelsäure wegen der Entstehung des schwerlöslichen Gipses,

[§ **355**] Salpetersäure, die 3—9%ig angewandt wird.

[§ **356**] Die erste Flüssigkeit darf wohl nie auf ganz frische Objekte angewandt werden, sondern nur auf vorher fixierte, aber auch diese, wenn sie grofs sind und längere

Zeit in der Entkalkungsflüssigkeit liegen, verändern sich sehr stark. Besser entkalkend und fixierend zugleich wirkt die zweite Flüssigkeit. Sehr gute Resultate erzielt man mit Pikrin- und Pikrinsalpetersäure, aber diese Flüssigkeiten dringen nur sehr wenig in die Tiefe und die Entkalkung geht aufserordentlich langsam von statten. Die Salpetersäure (namentlich schwächere Lösungen derselben auf kleinere Objekte angewandt, die vorher gut fixiert waren) liefert ebenfalls sehr Gutes. Statt des Wassers wird koncentrierte Kochsalzlösung empfohlen, durch welche die quellende Wirkung der Säuren aufgehoben wird. Bei allen diesen Flüssigkeiten gilt die Regel, möglichst viel Flüssigkeit zu nehmen und dieselbe möglichst oft zu wechseln.

Die Zeit der Entkalkung richtet sich nach der angewandten Flüssigkeit, Koncentration derselben, Temperatur u. s. w., dauert aber immerhin ziemlich geraume Zeit, mitunter wochenlang. Der Knochen ist dann entkalkt, wenn er so weich geworden ist, dafs man ihn schneiden kann, Dies mufs man durch Probieren feststellen, indem man versucht, Schnitte darzustellen oder mit einer feinen Nadel in den Knochen einzustechen.

Die in diesen vier Flüssigkeiten entkalkten Stücke werden längere Zeit ausgewaschen, 24 Stunden und darüber, bis sie die Farben resp. die Säuren vollkommen dem Wasser abgegeben haben, und kommen dann, wie die fixierten Stücke, in Spiritus von allmählich steigender Koncentration.

[§ 357] Alle diese Flüssigkeiten bringen die Grundsubstanz des Knochens zum Quellen und so kommen die meisten Primitivröhrchen zum Verschlufs; die feinere Struktur der Grundsubstanz und namentlich die der Lamellen geht ebenfalls verloren.

[§ 358] Um auch diese zu erhalten, hat v. Ebner eine wässerige Kochsalz-Salzsäurelösung vorgeschlagen, die folgendermafsen zusammengesetzt ist:

Eine kaltgesättigte Kochsalzlösung wird mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und 2 % Salzsäure zugesetzt. Während die zu entkalkenden Knochen in dieser Flüssigkeit verweilen, wird täglich etwas Salzsäure zugesetzt, bis die Knochen biegsam geworden sind. Sie werden nun mit zur Hälfte gesättigter wässeriger Kochsalzlösung gewaschen. Diese nimmt bald saure Reaktion an, welche durch Ammoniak gehoben wird, und zwar so lange, bis der Knochen neutral geworden ist. Der Knochen kann geschnitten werden. Diese Flüssigkeit entkalkt sehr langsam, liefert aber gute Resultate.

[§ 359] Für sehr zarte Objekte, also kleine embryonale Knochen oder für Felsenbeine ganz kleiner Tiere kann man sich auch der Chromosmiumsäure (1 %ige Osmiumsäure 10 ccm, 1 %ige Chromsäure 25 ccm, destilliertes Wasser 65 ccm) bedienen und läfst diese 1—2 Tage einwirken. Das Auswaschen geschieht in 70%igem Spiritus.

[§ 360] Für sehr kleine Objekte, die sehr wenig Kalk enthalten, genügt aber schon der Aufenthalt derselben in einer schwachen Chromsäure, wie sie zum Fixieren gebraucht wird, resp. in der Müllerschen Lösung, welche auch etwas freie Chromsäure enthält.

[§ 361] Man gewöhne sich, die Entkalkung erst an fixierten Stücken vorzunehmen; wenn auch die Zeit, die zur Entkalkung solcher notwendig ist, eine viel längere ist, so werden doch die Weichteile viel besser geschont.

[§ 362] Phloroglucin mit Salzsäure gemischt, gehörig mit Wasser verdünnt ist im stande, ganz grofse kalkhaltige Stücke wie Knochen und Zähne in kurzer Zeit zu entkalken, wobei die eingeschlossenen Zellen sich sehr gut erhalten. Die Entkalkung geschieht rasch. Die Stücke werden mit Wasser gewaschen.

[§ 363] Der so vorbereitete und ausgewaschene Zahn resp. Knochen läfst sich, mit Celloidin (siehe § 131) durchtränkt, schneiden.

[§ 364] Will man getrennt die **Weichteile des Knochens** untersuchen, so kann man durch geeignetes Sprengen des Zahns resp. der Diaphyse des Knochens, welches bei einer gewissen Spannung im Schraubstock plötzlich und ohne Splittern zu erfolgen pflegt, grofse Stücke der Pulpa resp. des Marks intakt herausnehmen. Falls sie keine Hartteile, sekundäre Dentinbälkchen, resp. spongiöse Bälkchen der nicht ganz resorbierten endochondralen Diaphyse enthalten, können sie ohne weiteres fixiert und nach den allgemeinen Regeln weiter behandelt werden.

[§ 365] Will man die Hart- und Weichteile im Zusammenhange untersuchen, ohne die Entkalkung vorher vorzunehmen, so bediene man sich der von **v. Koch** mit so grofsem Erfolge bei seinen Korallenuntersuchungen angewandten Methode. Diese wurde von Weil für die Herstellung der Zahn- und Knochenschliffe mit Erhaltung der Weichteile angewandt. Zähne oder Knochen werden, nachdem durch geeignetes Absprengen der Hartteile der Zugang zu den Weichteilen gesichert ist, fixiert und nach den allgemeinen Regeln bis zur eventuellen Stückfärbung inkl. behandelt. Dann werden sie durch absoluten Alhohol und Terpentinöl resp. Chloroform in eine Mischung von Canadabalsam und Terpentinöl resp. Chloroform übertragen. Durch

allmähliches Verdunsten des Chloroforms resp. Eindicken des Terpentinöls, zumal bei einer höheren Temperatur, was unter Umständen ein paar Wochen in Anspruch nimmt, wird der den Zahn imprägnierende Canadabalsam und die Umgebung steinhart. Dann kann das Ganze nach denselben Regeln geschliffen werden, wie die Hartgebilde allein.

[§ 366] Will man die **Hartgebilde allein** untersuchen, so wähle man ganz dünne Knochenlamellen; Nasenmuscheln und Siebbeinzellen u. s. w. liefern solche, die man ohne weiteres, wenigstens bei schwacher Vergröfserung, nachdem man Periost etc. abgeschabt hat, untersuchen kann. Oder man bereite sich mit einem scharfen Knorpelmesser von einem dickeren Knochen eine genügend transparente Lamelle, die ebenfalls ohne weiteres untersucht werden kann.

[§ 367] Will man aber ausgedehntere Territorien, einen dickeren Knochen studieren und namentlich die Verbreitung der Hohlräume im Zahn und Knochen zur Darstellung bringen, so stelle man **Knochenschliffe** her, indem man folgendermafsen verfährt. Man wähle alte, gut macerierte und möglichst fettarme Knochen. Aus den Hohlräumen dieser Knochen ist durch die kombinierte Wirkung der Fäulnis und Austrocknung fast die ganze organische Substanz entfernt und die kleinsten Hohlräume im Knochen und Primitivröhrchen sind mit Luft gefüllt. Man bereite sich durch zwei parallele Schnitte vermittelst einer Laubsäge eine dünne Lamelle, die man einer Region im Knochen entnimmt, welche man gerade studieren will. Auf einem harten und planen Schleifstein oder zwischen zwei solchen wird die eine Fläche vollkommen eben gemacht. Diese Fläche wird auf einer matten Glasplatte poliert. Der Knochen wird gewaschen und getrocknet und die fertig polierte Fläche auf eine dicke, mit abgeschliffenen Rändern versehene Glasplatte mit Canadabalsam befestigt, welche Procedur eine besondere Übung verlangt. Nun wird auch die andere Fläche auf einem harten planen Schleifstein geschliffen, bis die ganze Lamelle eine sehr dünne wird.

[§ 368] Ist das Knochenstück nicht genügend auf der Glasplatte mit Canadabalsam befestigt gewesen, was man an den glänzenden Luftblasen zwischen dem Schliff und der Glasplatte erkennt, so pflegt der Schliff gerade zu der Zeit, wenn er anfängt brauchbar zu werden, zu zerbrechen.

Man kann sich auch in der Weise den Schliff anfertigen, dafs man ihn auf eine Schleifsteinplatte einfach mit dem Finger oder mit einem Stückchen Kork andrückend von der einen und dann von der anderen Seite abreibt, bis er genügend dünn, durchscheinend wird.

Diese Methode ist keine sichere und namentlich der Anfänger mache sich auf viel Materialverlust gefafst. Die oben im Text geschilderte Methode des Schleifens ist namentlich von den Mineralogen ausgebildet worden und man kann, wie gesagt, auch sehr harte Gebilde, Minerale, Gehäuse von Mollusken etc. mit ihr schleifen, nur dafs man, je nach der Härte entweder härtere Steine, Schmirgel oder gar Demantpulver anwendet.

[§ 369] Der Schliff, nachdem er auf einer Glasplatte poliert worden ist, kann entweder gleich in Canadabalsam eingeschlossen werden, indem man die Glasplatte als Objektträger benutzt; dieses führt aber im allgemeinen zu keinem Ziele, da die Hohlräume durch den darin enthaltenen Canadabalsam, welcher annähernd ebenso Licht bricht, wie die hell gewordene Grundsubstanz des Knochens, unsichtbar werden, oder man löst die nun sehr vorsichtigzu behandelnde zarte Knochenlamelle mit Chloroform von der Glasplatte ab. Läfst man den Schliff trocknen und betrachtet man sich denselben etwa im Wasser, so sieht man in der ersten Zeit aufserordentlich deutliche, schwarz gefärbte, mit Luft gefüllte Knochenkörperchen und Primitivröhrchen. Es tritt allmählich aber sehr langsam Wasser an Stelle der austretenden Luft ein. Auf dieser Thatsache beruht nun die folgende einfache Darstellung der Primitivröhrchen und Knochenkörperchen.

[§ 370] Den lufttrockenen, weifsgewordenen Schliff legt man auf ein auf dem Objektträger, etwa auf einer Spirituslampe, flüssig gemachtes hartes Canadabalsamstück und bedeckt ihn mit einem zweiten auf einem Deckglase flüssig gemachten. Die ganz einfache Procedur nimmt kaum eine halbe Minute in Anspruch, der Canadabalsam erstarrt in der kürzesten Zeit und es bleibt die Luft in den Knochenräumen gefangen. Man hat also ein Dauerpräparat von Knochenkörperchen und Röhrchen gewonnen.

[§ 371] Auch an den Schnitten durch entkalkte Knochen gewinnt man durch Eintrocknen, aber nur an kleinen Bezirken mit Luft gefüllte Primitivröhrchen und Körperchen, die man auf dieselbe Weise dauernd einschliefsen kann (Flemming).

[§ 372] Man kann bei Schliffen aber auch anstatt der Luft einen Farbstoff substituieren, so **Anilinblau** löslich in Alkohol und unlöslich in Wasser oder einen anderen, z. B. Methylviolett. — Man verfährt dabei folgendermafsen: Man nimmt eine alkoholische koncentrierte Lösung von Anilinblau, am besten in einer kleinen ca. 15 g fassenden Abdampfschale, nun lege man den lufttrockenen Schliff

hinein, erwärme das Ganze langsam, bis der Alkohol verdunstet ist. Bei diesem Erwärmen entweicht aber in der Regel die ganze Luft, und es werden die Räume im Schliffe mit dem feinen Anilinblaupulver gefüllt. Da aber die Flächen des Schliffes bei dieser Procedur mit Niederschlägen verunreinigt werden, so entferne man diese mit Messer, Pincette und Pinsel, soweit es geht, und schliefslich durch Polieren auf einer Glastafel, die mit einer 2- bis 3%igen Kochsalzlösung, welche Anilinblau nicht löst, benetzt werden darf. Man spüle den Schliff in derselben Kochsalzlösung ab und schliefse definitiv ein in Glycerin-Kochsalz; oder, nachdem der Schliff ganz flüchtig mit destilliertem Wasser abgespült worden ist, um Kochsalz zu entfernen, wird er sehr schnell getrocknet und nach der vorhin erwähnten Methode in harten Canadabalsam eingeschlossen.

Das gewöhnliche Überführen in flüssigen Canadabalsam ist in diesem Falle deshalb nicht zulässig, weil Anilinblau durch Alkohol, ätherische Öle etc. gelöst, resp. angegriffen wird.

[§ 373] Ganz dieselben Methoden können ohne weiteres auf die Zähne übertragen werden, wobei selbstverständlich die Dentinröhrchen mit Luft resp. Farbe gefüllt werden.

[§ 374] An den mit Anilinblau behandelten Knochenschliffen sieht man, namentlich an Querschnitten farblose, scharf begrenzte Kreise. Es sind Sharpeysche Fasern. (Ranvier.)

[§ 375] Um die Knochenkörperchen Virchows zu isolieren, d. h. die Knochenhöhlen mit dazu gehörigen Primitivröhrchen mit der sie begrenzenden kompakten Knochensubstanz, verfährt man in der Weise, dafs man dünne Schliffe in einer koncentrierten Salpetersäure einige Stunden bis einen Tag verweilen läfst; die Schnitte werden auf einem Objektträger deponiert, mit einem Deckgläschen bedeckt. Drückt man auf das Deckgläschen mit einer Zupfnadel, so kommen in der Regel ellipsoidische Körper mit zahlreichen Ausläufern isoliert zum Vorschein.

[§ 376] Feine Knochenschliffe können in einem Platintiegel geglüht und dann untersucht werden. Beim Glühen wird die organische Substanz zerstört und man bekommt beispielsweise die Sharpeyschen Fasern, wenigstens die nicht verkalkten, äufserst deutlich zu Gesicht. (Kölliker.)

[§ 377] Für Studium der **Ossifikation** nehme man als Material am besten Röhrenknochen embryonaler Säugetiere, entkalke dieselben und schneide etc. in der Längsrichtung.

[§ 378] Als Färbung kann man anwenden: Methylgrün-Eosin (siehe § 259) oder Karmin-Hämatoxylin. Nach der Färbung mit Borax-Karmin nachzufärben mit Hämatoxylin. Norris und Shakespeare (siehe § 248).

Färbt man die zum Studium der Ossifikation bestimmten Präparate mit Hämatoxylin und behandelt diese eine sehr kurze Zeit mit Pikrinsäure, so erzielt man eine sehr instruktive Doppelfärbung, indem die Knorpelsubstanzüberreste blau und die neugebildeten Knochenlamellen gelb bis bräunlich erscheinen.

6. Kapitel.

Muskel, Nerv und Nervenendigungen im Muskel.

[§ 379] Die **quergestreiften Muskeln**, z. B. einem Schenkel eines Frosches entnommen, werden **frisch** auf einem Objektträger in physiologischer Kochsalzlösung oder einer andern indifferenten Flüssigkeit untersucht. Die Querstreifung von solchen Muskeln ist kaum zu sehen, besser die Fibrillärstreifung.

Bei Fröschen sieht man oft zwischen den Fibrillen glänzende Pünktchen (namentlich bei Winterfröschen); es sind Fettkügelchen.

[§ 380] Nach einiger Zeit hebt sich schon bei dieser Untersuchungsweise das Sarcolemma gewöhnlich ab.

In einer noch kürzern Zeit kann man das Sarcolemma dadurch zur Ansicht bringen, dafs man zu frisch gezupften Muskelfasern etwas Wasser zusetzt; es hebt sich aldann das Sarcolemmahäutchen so ab, dafs es mehr oder weniger kugelige Hervorragungen bildet.

[§ 381] Für die Darstellung des Sarcolemmas empfiehlt Solger statt des gewöhnlichen Wassers resp. Kochsalzes die Anwendung einer kalt gesättigten Lösung des kohlensauren Ammoniaks. Schon nach fünf Minuten hebt sich der Sarcolemmaschlauch an sehr vielen Stellen ab.

[§ 382] Man sieht **Querstreifung** sehr gut an alten in **Spiritus** längere Zeit (Monate, Jahre) aufgehobenen Muskeln, die man nach der Isolation auf dem Objektträger vorteilhaft mit Hämatoxylin färben und in verdünntes Glycerin einschliefsen kann. Die doppelt brechenden Substanzen erscheinen dunkelblau, das Übrige heller bis farblos.

[§ 383] Es ist eine Anzahl von Reagentien vorhanden, die den fibrillären Zerfall der Muskelfaser beim Zupfen bewirken.

[§ 384] Spiritus in allen Koncentrationen (ausgenommen die allerschwächsten etwa bis 10 %),

[§ 385] sehr dünne Chromsäurelösungen (unter 1/10 %), dünne Lösungen der chromsauren Salze.

[§ 386] Schwache Essigsäure (1/2 bis 1 %ig), eine 1/2 bis 5 %ige Salzsäurelösung, Magensaft etc. bewirken dagegen den Zerfall der Muskelfasern in Scheiben.

[§ 387] Es ist nicht gleichgültig, ob man einen gedehnten oder nicht gedehnten, kontrahierten oder schlaffen Muskel untersucht.

Um alle diese Zustände des Muskels sich zu beschaffen, verfährt man in der Weise, dafs man durch eine passende Lage der Extremitäten, z. B. an einem Muskel oder einer Muskelgruppe den gedehnten oder nicht gedehnten Zustand herstellt. Ist das geschehen, so injiziert man durch Einstich mit einer Pravazschen Spitze etwa 1/4—1/2 ccm einer 1 %igen Osmiumsäure, welche sich den Fasern entlang verbreitet und diese sofort fixiert. Nach 15 bis 20 Minuten schneidet man mit einer krummen Schere in dieser Weise fixierte Stücke aus, wäscht sie ebenso lange Zeit mit destilliertem Wasser und fasert auf dem Objektträger. Man sieht die Querstreifung sehr deutlich, schon an ungefärbten und in Glycerin eingeschlossenen Präparaten.

Solche gedehnte und nicht gedehnte Muskeln können aber auch in Tetanus versetzt werden, indem man die Muskeln beispielsweise elektrisch reizt und in kontrahiertem Zustande, wie oben erwähnt, fixiert und in ganz gleicher Weise weiter behandelt.

[§ 388] Auch rote und weifse Muskeln sehen nicht ganz gleich aus, namentlich was die Höhe der Scheiben und die Verteilung der Kerne betrifft.

[§ 389] Um die Verteilung der Kerne in verschiedenen Muskelarten der verschiedenen Tiere zu studieren, schneide man die Muskelfaser quer; auf sehr dünnen Schnitten kann man auch die Verteilung der Fibrillen in der Faser studieren. Muskelfasern, die vorher vergoldet (siehe § 414) und quer resp. längs geschnitten waren, zeigen auf das deutlichste das dunkelgefärbte Sarcoplasma.

[§ 390] Um die Verhältnisse der Muskelfaser zur Sehne zu studieren, empfehlen sich die Methode von Weismann und die von Ranvier.

[§ 391] Kleine Muskeln mit entsprechenden Sehnen werden mit 35 %iger Kalilauge 1/4 Stunde lang behandelt und dann auf dem Objektträger die Stelle zwischen Muskel und Sehne gefasert. Es lassen sich Muskelfasern mit der entsprechenden Sehne isolieren (Weismann).

[§ 392] Ranvier empfiehlt, einen lebenden Frosch in Wasser von 55° C. zu setzen; er stirbt darin sehr bald und die Muskeln werden starr. Man lasse den Frosch in dem kälter werdenden Wasser 1/4 Stunde, dann wird er herausgenommen. Man schneidet mit einer Schere einen kleinen

Streifen aus, der gleichzeitig Muskel und Sehne enthält und fasert im Wasser.

[§ 393] Auf die Beziehungen der Fibrillen zu Sehnenfäserchen an dem Polster der Unterlippe des Kaninchens macht Potwisotzki aufmerksam, und zwar mit der Methode: Flemmingsche Flüssigkeit, Safranin und Extrahieren mit Pikrinsäure. Man sieht an dieser Stelle, dafs sich einzelne Muskelfibrillen in die Sehnenfibrillen fortsetzen.

[§ 394] **Glatte Muskelfasern** werden mit starker bis 20%iger **rauchender Salpetersäure isoliert.** Frische Stücke der Muskelhaut eines Darmstückes werden in die oben angegebene Salpetersäure auf einige Stunden (2—3 Stunden) eingelegt. So vorbereitete Muskeln werden mit Wasser gewaschen und lassen sich sehr gut auf dem Objektträger zerfasern. Läfst man die Stücke in der Salpetersäure längere Zeit (12 bis 24 Stunden) so fallen die Muskeln beim Schütteln von selbst aus einander; die einzelnen Muskelzellen aber sind schlecht erhalten, unregelmäfsig gezackt und der Kern ist vollkommen aufgelöst. Solche Stücke kann man dauernd aufheben.

[§ 395] Legt man aber kleinere Stückchen in eine **Kalilaugelösung** von specifischem Gewicht von 1,33 und beläfst sie dort 1—1½ Stunden so lassen sich in derselben Flüssigkeit durch Fasern aufserordentlich deutliche Spindeln darstellen. Ist der Macerationsprozefs vollkommen gelungen, so zerfallen die Muskelmembranen in lauter Fasern schon infolge des Druckes des Deckgläschens; sie werden in Kalilauge untersucht. Man hüte sich, dieselbe mit den Objektiven in Berührung zu bringen.

[§ 396] Es ist zwar möglich, durch vorsichtiges Neutralisieren der Kalilauge mit Säuren, Auswaschen und Färben solche Präparate in Glycerin überzuführen, die Procedur ist aber eine so komplizierte und minutiöse, dafs wir sie nicht empfehlen.

Born bereitet die durch die Kalilauge von 35% isolierten Muskelfasern dadurch zum Einschliefsen vor, dafs er sie zunächst in Glycerin zerteilt und darauf 2—3 Tropfen salzsäurehaltigen Glycerins und Jodtinktur so lange zusetzt, bis beim Umrühren die braune Jodfärbung des Glycerins nicht mehr verschwindet. Die Jodfärbung der Fasern schwindet später wieder, kann aber durch Karminfärbung ersetzt werden.

[§ 397] An kleinen Gefäfsen, z. B. den Mesenterien kleinerer Tiere lassen sich die Kittlinien der glatten Muskelfasern sehr schön darstellen. Solche Bilder findet man gewöhnlich an Mesenterien, die man zum Zwecke der Endothelzeichnung hergestellt hat, vor (siehe § 277).

[§ 398] Mit einer 1%igen Osmiumsäure fixierte glatte Darmmuskulatur kleinerer Tiere, z. B. des Frosches wird in Paraffin eingeschmolzen und genau senkrecht auf die Richtung der Fasern möglichst dünn (unter 5 μ) geschnitten. Die Querschnittsbilder sind instruktiv und sehr charakteristisch. An gefärbten Längsschnitten studiere man die stabförmigen Kerne der Muskelfasern. Solche Darmschnitte bieten zugleich Längs- und Querschnitte.

[§ 399] Um die **Herzmuskelzellen** mit Kalilauge zu isolieren, verfährt man genau in derselben Weise, nur dafs die Isolation hier in der Hälfte Zeit einzutreten pflegt. Der Zerfall in Zellen ist aber beim Herzen nie ein so vollkommener, wie bei der glatten Muskulatur.

[§ 400] **Purkinjesche Muskelzellen** werden in der Weise dargestellt, dafs man 1/2 mm dicke Lamellen mit dem Endokard in wenig 1/3%igen Ranvierschen Alkohol auf 24 Stunden einlegt. Auch 5%ige Lösung von Ammonium monochromat in Wasser leistet Vorzügliches.

Es läfst sich nun das Endokard ganz glatt abziehen, die Purkinyeschen Fäden werden abgehoben und zerzupft. Es lassen sich die Zellen bequem mit Nadeln isolieren, eventuell isolierte Zellen beispielsweise mit Pikrokarmin nachfärben, (nicht zu stark) und in Glycerin einschliefsen. Sehr geeignete Objekte liefern die Herzen der Schafe, Ziegen und Pferde.

[§ 401] Die **markhaltigen Nervenfasern** kann man im überlebenden Zustande in einer indifferenten Flüssigkeit (siehe § 70) zerfasern und in dieser Weise studieren.

Frische Nerven, einem eben getöteten Tiere, z. B. Frosch (Nervus ischiadicus) entnommen, werden auf dem Objektträger sorgfältig der Länge nach gefasert. Es empfiehlt sich, auch hier die Ranviersche Halbeintrocknungsmethode zu befolgen (siehe § 324). Ist die Procedur fertig, so kann man physiologische Kochsalzlösung hinzusetzen und den eigentümlichen Glanz der Markscheiden, den homogen erscheinenden Achsenraum, die Ranvierschen Einschnürungen die Lantermannschen Segmente und selten die Kerne sehen.

[§ 402] Setzt man Wasser hinzu und namentlich destilliertes, so verändern sich in kürzester Zeit in eigentümlicher Weise die Markscheiden; es verschwinden die Ranvierschen Einschnürungen, später auch die Lantermannschen Segmente und es treten innerhalb der Markscheide eigenartige Gerinnungen auf. An den freien Enden fliefst das Mark aus und gerinnt zu sehr typisch aussehenden Myelintropfen. Diese letzteren trifft man auch massen-

haft, wenn man weiſse Substanz des centralen Nervensystems fasert.

[§ **403**] Zu so hergestellten Zupfpräparaten kann man auch eine 1%ige Überosmiumsäure zusetzen und in einer feuchten Kammer ½ Stunde einwirken lassen. Die Nerven sind fixiert und die Markscheiden fangen an schwarz zu werden. Die Ranvierschen Einschnürungen bleiben farblos und heben sich dadurch scharf ab. Entfernt man die Osmiumsäure mit Fließpapier, legt ein Deckgläschen auf die zerzupften Nerven, wäscht zunächst mit destilliertem Wasser, welches man von einer Seite des Deckglases zufließen läſst und auf der andern mit einem Streifen Fließpapier aufsaugt, und läſst dann anstatt des Wassers langsam Glycerin zufließen, so kann man in der letzteren Flüssigkeit dauernd einschließen (siehe § 196).

[§ **404**] Zu in dieser Weise gezupften Präparaten kann man ferner wässerige Silbernitratlösung etwa $1/10$% hinzusetzen. Nach 5 Minuten entfernt man den Tropfen mit Fließpapier und verfährt im übrigen wie im vorigen Falle, d. h. man wäscht mit destilliertem Wasser unter dem Deckglase, setzt allmählich Glycerin zu etc.

Man erhält auf diese Weise die bekannten **Ranvierschen Kreuze** und die Frommannschen Linien; die letzteren pflegen erst später unter dem Einfluſse des Lichtes zu erscheinen. Will man solche Präparate in Canadabalsam einschließen, so kann man Wasser durch Alkohol unter dem Deckglase ersetzen, den letzteren mit Nelkenöl; dieses wird mit Fließpapier entfernt, und man läſst Canadabalsam hinzufließen.

Auch folgende Methoden können mit Vorteil in Anwendung gebracht werden.

[§ **405**] Ein dünner Nerv, etwa der Ischiadicus eines Frosches wird in situ auf einem Stückchen Holz mit Nähfäden aufgespannt, ausgeschnitten und mit einer ½%igen Osmiumsäure etwa 12 Stunden behandelt. Der fixierte Nerv wird etwa ½ Stunde mit destilliertem Wasser gewaschen, kommt dann direkt in absoluten Alkohol auf etwa zwei Stunden, wird in einem ätherischen Öle ebenso lange aufgehellt und kann nun auf dem Objektträger zerfasert werden. Es wird dazu aber nur das Stück gebraucht, welches innerhalb der Schnürstellen gelegen ist, und zwar in einiger Entfernung, etwa ½ mm von derselben entfernt. Solche gezupfte Präparate können direkt in Canadabalsam eingeschlossen werden, nachdem man das überflüſsige Öl mit Fließpapier entfernt hat.

[§ 406] Beliebig dicke Nerven werden im mäfsig gespannten Zustande in eine ½ bis 1 %ige wässerige Silbernitratlösung auf 12 bis 24 Stunden gelegt, kurze Zeit mit destilliertem Wasser gewaschen und in Alkohol übertragen. Solche Nerven können entweder wie im vorigen Beispiel gezupft werden, oder aber nach den allgemeinen Regeln z. B. mit Paraffin durchtränkt und der Länge nach geschnitten werden. Es erscheinen nach kurzer Zeit Ranviersche Kreuze und Frommannsche Linien.

[§ 407] Vor wenigen Jahren hat Kühne auf eigentümliche Netze innerhalb der Markscheide aufmerksam gemacht, die man vermittelst der Verdauung der Nervenfasern mit Trypsin gewinnen kann. Noch einfacher bringt man diese zur Anschauung, wenn man markhaltige Nerven mit Alkohol und Schwefeläther behandelt, zerfasert und mit Hämatoxylin, z. B. mit Böhmerschem, auf dem Objektträger färbt. Diese Netze, deren Präexistenz noch nicht strikte nachgewiesen ist, färben sich blau und sind die Hornspongiosanetze Kühnes.

[§ 408] Die **Schwannsche Scheide und die Kerne** studiert man an mit Osmiumsäure behandelten und gezupften Präparaten.

Die lamellöse Scheide untersucht man an sehr feinen Nerven, die man mit Silbernitrat behandelt nach der bei den Endothelien (siehe § 277) angegebenen Methode.

[§ 409] Behandelt man die Nerven, um sie zu fixieren, mit Chromsäure, Alkohol oder chromsauren Salzen und zerlegt sie in Quer- oder Längsschnitte, so sieht man keine diskreten Fibrillen im Achsenraume mehr, sondern diese sind mehr oder minder zu dünneren (Chromsäure) oder dickeren (Alkohol) Fäden zusammengebacken, sogenannte Achsencylinder.

Um den **Axencylinder** zu isolieren, empfiehlt es sich, die mit sehr schwacher Chromsäure etwa $^1/_{10}$% oder mit schwachem doppelchromsaurem Kalium etwa $^1/_5$% einige Tage bis zu einer Woche zu behandeln und dann zu fasern. Es gelingt meistens beim Zupfen, die geronnene Markscheide stellenweise abzustreifen und so den sogenannten Achsencylinder blofszulegen. Ganz besonders grofse Strecken des Achsencylinders bekommt man dadurch, dafs man zu den frisch gezupften Präparaten Eisessig zusetzt, eine Methode, die von Kölliker empfohlen wird.

[§ 410] Um die **Fibrillen** im Achsenraume zur Darstellung zu bringen, empfiehlt sich folgende Methode: Der Nervus ischiadicus eines Frosches wird blofsgelegt, auf einem Stückchen Holz in seiner natürlichen Spannung mit Bindfaden

befestigt, auf etwa 4 Stunden in ½%ige wässerige Überosmiumsäurelösung gebracht, ebenso lange Zeit in destilliertem Wasser ausgewaschen und mit 90%igem Alkohol etwa 24 Stunden nachgehärtet. Den so behandelten Nerven werden Stückchen von etwa ½ cm Länge entnommen und in einer gesättigten, wässerigen Lösung des sauren Fuchsins 24 Stunden lang gefärbt und ebenso lange Zeit in absolutem Alkohol nachbehandelt. Man durchtränke solche Stückchen in gewöhnlicher Weise mit Paraffin und schneide möglichst dünn, nicht über 3 μ. Die Fibrillen erscheinen rot, das interfibrilläre Plasma farblos; am instruktivsten sind die Längsschnitte, welche mit besonderer Sorgfalt orientiert werden müssen.

Man kann ähnliche, jedoch nicht so schöne Resultate erzielen, wenn man statt des sauren Fuchsins Bismarckbraun u. s. w. anwendet.

[§ 411] **Remaksche Fasern** werden am besten dargestellt, indem man den Sympathicus oder besser den Vagus eines Säugetiers mit Osmiumsäure behandelt. Zwischen den markhaltigen Fasern des Vagus findet man zahlreiche sympathische. Die letzteren bleiben bei dieser Behandlung ungefärbt.

[§ 412] Für die Darstellung der **Nervenenden in den quergestreiften Muskeln** wähle man, wenn möglich, kurze Muskeln, z. B. die Augenmuskeln. Solche werden ausgeschnitten, auf einem Objektträger ausgebreitet und mit Nadeln vorsichtig der Länge nach gefasert. Setzt man eine 1%ige Essigsäure zu, bedeckt mit einem Deckglase, so treten nach ein paar Stunden die Nerven deutlich hervor und man kann diese bis in den Muskel verfolgen. Die Essigsäurepräparate lassen sich nicht dauernd einschliefsen.

[§ 413] Injektionen von Methylenblaulösung in Kochsalz, die bei Säugern in die Venen direkt, beim Frosch in die Venen oder in den Lymphsack eingeführt werden, haben in der letzten Zeit zur Erforschung der Nervenenden gedient.

Man verwende hiezu Methylenblau rectificat. (Grübler) für vitale Färbung.

[§ 414] Für das Studium der Nervenendigungen überhaupt und der im Muskel insbesondere ist die von Cohnheim (für Cornea zunächst) eingeführte sogenannte **Vergoldung** von Bedeutung. Die Goldmethode ist keine sichere. Sie führt gar oft zu schlechten oder gar keinen Resultaten und man ist in den meisten Fällen nicht einmal im stande, die Fehlerquelle anzugeben.

Aus den für die Nervenenden im Muskel gebräuchlichen Methoden greifen wir die zwei sichersten heraus: die Löwit-Fischersche und die Ranviersche.

[§ 415] Die **Löwitsche Methode.** Kleine Muskelstücke (1 cmm) werden in 1/3 Ameisensäure (Ameisensäure 1, destilliertes Wasser 2) gelegt, bis sie durchsichtig werden (1 Minute). Sie werden alsdann in eine kleine Quantität einer 1%igen Goldchloridlösung auf etwa 1/4 Stunde übertragen, in dieser Flüssigkeit werden sie gelb. Die Stücke kommen in die 1/3 Ameisensäure zurück und verbleiben darin 24 Stunden in der Dunkelheit, man kann sie dann auf ebenso lange in eine koncentrierte Ameisensäurelösung übertragen, in welcher sie ebenfalls im Dunklen gehalten werden.

Die Stücke werden mit destilliertem Wasser gewaschen und auf dem Objektträger gezupft. Die centrale Partie der Stücke ist gewöhnlich violett, die periphere schmutzigbraun. Zwischen den beiden Schichten liegen Muskelfasern, welche die am besten tingierten Nerven- und Nervenendapparate aufweisen.

[§ 416] Kühne säuert mit 1/2%iger Ameisensäure vor, behandelt die Stücke mit 1%igem Goldchlorid und reduciert mit 20 bis 25%iger Ameisensäure, gelöst in Glycerin und Wasser zu gleichen Teilen.

[§ 417] **Ranvier** behandelt Muskelstücke, bevor er sie in eine 1%ige Goldchloridlösung überführt, mit Zitronensaft (frisch ausgepreſst und durch Flanell filtriert). Im Zitronensaft verbleiben die Stücke, bis sie durchsichtig werden (Minuten !); von da überträgt man die Stücke in eine 1%ige Goldchloridlösung auf ca. 20 Minuten; mit destilliertem Wasser kurz abgespült, kommen sie in ein schwach angesäuertes Wasser (1 Tropfen Eisessig auf 30 ccm Wasser), worin sie 24—48 Stunden im Lichte stehen gelassen werden. Bei so behandelten Stücken ist die Reduktion des Goldes keine vollkommene, deshalb dunkeln die daraus gewonnenen Präparate in der Regel nach; dies ist nicht der Fall, wenn man statt des schwachen Essigsäurewassers 1/3 Ameisensäure (wie bei Löwitscher Methode) 24 Stunden im Dunkeln einwirken läſst.

[§ 418] Golgi säuert mit 1/2%iger Arsensäure vor, statt Goldchlorid gebraucht er Goldchloridkalium (Gerlach) und dann 1%ige Arsensäure, worin die Reduktion im Sonnenlichte vor sich geht.

[§ 419] Am leichtesten gelingen die Vergoldungen bei Reptilien (unter diesen bei Pseudopus Pallasii), dann kommen die Säuger. Ungünstig sind die Vögel, Amphibien und Fische.

[§ **420**] Negro empfiehlt folgendes Hämatoxylin, um an frischen Muskeln in wenigen Minuten die Nervenenden sichtbar zu machen. Ammoniakalaun koncentrierte Lösung 180; 2 ccm einer gesättigten alkoholischen Hämatoxylinlösung 8 Tage dem Lichte ausgesetzt und Methylalkohol und Glycerin je 25 ccm hinzugefügt.

[§ **421**] Die Vergoldung der Nervenenden in der glatten und in der Herzmuskulatur ist eine äufserst mühsame und unsichere.

7. Kapitel.

Rückenmark, Gehirn und Ganglien.

[§ **422**] Um **Ganglienzellen** zu **isolieren**, hat man eine Reihe von Methoden. Einige der bewährtesten sind folgende:

[§ **423**] Eine 1%ige Osmiumsäure oder 1/3 Alkohol (siehe § 270) wird in das Vorderhorn des Rückenmarks durch Einstechen injiziert, die so fixierte Stelle herausgeschnitten, gezupft und mit Glycerin eingeschlossen.

[§ **424**] Kleinere Stücke aus den Vorderhörnern des Rückenmarks werden herausgeschnitten und maceriert. Dazu können folgende **Isolations-Flüssigkeiten** verwendet werden, in welche Stückchen bis zu 1/2 ccm eingelegt werden.

[§ **425**] 1/3 Alkohol 1—2 Wochen.
[§ **426**] 1—0,5‰ige Chromsäure auf 3—5 Tage.
[§ **427**] 1%ige Kalium bichromicum-Lösung 2 Tage.
[§ **428**] 1‰ige Osmiumsäure 24 Stunden.

Durch Schütteln oder Zupfen lassen sich dann die Ganglienzellen leicht isolieren. Die Präparate werden in Wasser oder Glycerin eingeschlossen, sie können vorher durch Zusatz von etwas Eosin zum Glycerin gefärbt werden.

[§ **429**] Zur Isolation der Ganglienzellen kann man auch Chlorwasserstoff-Salpetersäure (Königswasser) verwerten und die Zellen ertragen diese Behandlung verhältnismäfsig gut.

[§ **430**] Vorsichtig angefertigte Quetschpräparate der frischen grauen Substanz, namentlich der Vorderhörner (am besten zwischen 2 Objektträgern) liefern ganz instruktive Präparate, welche natürlich nicht aufgehoben werden können.

[§ **431**] Zur Isolation kann man sich auch eines Wasserstroms bedienen. Dünne Scheiben von Rückenmark frisch oder etwas angehärtet, etwa mit schwacher Osmiumsäure, werden mit einem Strahl von Wasser intensiv abgespült; Gefäfse und Ganglienzellen pflegen dann übrig zu bleiben.

[§ **432**] Um die Zellenfortsätze und die Faserzüge innerhalb des Centralnervensystems darzustellen und namentlich die sogenannten hirschgeweihähnlichen Fortsätze der Purkinjeschen Zellen des Kleinhirns ist die folgende alte

Methode von Gerlach noch immer auf das Wärmste zu empfehlen.

Die mit Kalium bichromicum oder Müllerscher Flüssigkeit fixierten Stücke werden senkrecht auf die Windungen geschnitten und die Schnitte mit einer sehr verdünnten ammoniakalischen Karminlösung (siehe § 215) längere Zeit gefärbt.

[§ 433] Aufser der Methode mit ammoniakalischem Karmin gibt es für Rückenmark eine zweite, die ebenfalls für Ganglien und Fasern Hervorragendes leistet und von Gerlach herrührt. Rückenmark vom Kind wird in einer 1 bis 2⁰/₀igen doppeltchromsauren Ammoniaklösung 2—3 Wochen lang fixiert, geschnitten und in eine Goldchloridkaliumlösung 1 auf 10,000, welche mit Salzsäure ganz schwach angesäuert ist, auf 10—12 Stunden gelegt. Es werden die Schnitte in $^1/_2$ bis $^1/_3$ %iger Salzsäure gewaschen und kommen in eine 1%ige von 60%igem Alkohol auf 10 Minuten.

Nachdem das Präparat durch absoluten Alkohol und Nelkenöl in Canadabalsam übergeführt ist, sieht man die Nerven erst blafs, nach einigen Stunden sehr deutlich. Solche Präparate, wenn sie recht gut gelungen sind, konkurrieren geradezu mit den Weigertschen. Die Herstellung derselben ist aber bei weitem keine so sichere und es dunkeln die Präparate oft in Canadabalsam so nach, dafs sie unbrauchbar werden.

Für Färbung der Ganglienzellen und ihrer Ausläufer in den Centralorganen hat Golgi folgende Methoden angegeben.

[§ 434] **Sublimatmethode. Golgi** behandelt Stücke der Centralorgane von 1—2 cm Durchmesser 2—3 Wochen lang mit der Müllerschen Flüssigkeit oder mit doppeltchromsaurem Kalium allein, letzteres in von 3 auf 5% ansteigender Lösung. Es kommen weiterhin die Stücke in eine $^1/_4$ bis $^1/_2$ %ige Sublimatlösung, die oft zu wechseln ist, auf 8 bis 10 Tage und darüber. Sie können nun geschnitten, gut gewaschen und entweder in Glycerin oder Balsam aufbewahrt werden. Besonders günstig für diese Methode ist die Grofshirnrinde. Es sind jedoch die Resultate der Methode nicht konstant, es färben sich einmal Ganglienzellen, ein anderes Mal die Gliazellen und die Gefäfse. Das Gefärbte erscheint bei durchfallendem Lichte schwarz.

[§ 435] Pal empfiehlt, um die Schnitte reiner zu erhalten, die Nachbehandlung derselben mit Natriumsulfid. Auch die Präparate, die statt mit Sublimat mit Silbernitrat behandelt worden sind, werden mit Vorteil mit Natriumsulfid ($^1/_2$—1%) abgespült.

[§ 436] Nach einer zweiten Methode Golgis, wobei die Färbung auf Bildung **chromsauren Silberoxyds** beruht, werden die Stücke zunächst, wie oben mit einer von 3 auf 5%

rasch ansteigenden Lösung von Kalium bichromicum, welches mehrmals gewechselt werden mufs, 3 bis 4 Wochen behandelt. Dann werden sie aus dem Kalium bichromicum in eine ½- bis 1%ige salpetersaure Silberlösung übertragen. Die Reaktion vollzieht sich meist in 20 bis 30 Stunden. Dieses Verfahren gibt keine konstanten Resultate.

[§ **437**] Rascheres Arbeiten gestattet folgende Methode Golgis. Die Stücke werden vorbehandelt in 8 Teilen einer 2%igen Kaliumbichromicumlösung, gemischt mit einem Teil einer 1%igen Osmiumsäurelösung, und dann in eine ½- bis 1%ige Lösung von salpetersaurem Silber übertragen.

[§ **438**] Ramon y Cajal hat letztere Methode folgendermafsen modifiziert. Die Stücke kommen auf 3 Tage in 3%ige Kalium bichromicum-Lösung, 4 Volumina, 1%ige Ueberosmiumsäure-Lösung, 1 Volumen und dann auf 1 bis 2 Tage in eine ¾%ige Silbernitratlösung; nur für sehr kleine Stücke, namentlich Embryonenhirne geeignet.

[§ **439**] Es werden die Stücke geschnitten, die Paraffinmethode ist nicht ausgeschlossen, die Schnitte dürfen aber nicht mit einem Deckglase bedeckt werden. Man überträgt sie defshalb auf ein Deckgläschen in eine dicke Canadabalsamlösung, welche nach und nach hart wird. Dieses Deckgläschen wird in ein hölzernes Rähmchen zweckmäfsig eingesetzt und die Schnitte von der Seite des Deckglases untersucht.

Für schwache Vergröfserung können die Schnitte auf dem Objektträger ohne Deckglas in Canadabalsam eingeschlossen werden.

[§ **440**] Methylenblau (siehe auch § 413) gelöst in der physiologischen Kochsalzlösung wird in eine Vene resp. in den Lymphsack eines Frosches 3 bis 5 ccm eingespritzt. (Beim Kaninchen wird z. B. in die Vena jugularis ext. eingespritzt.) Nach ein paar Stunden werden Nerven, sympathische Ganglienzellen, Muskeln etc. untersucht. In der Luft wird die Farbe intensiver. Man sieht präcis tingiert die Nervenausbreitung im Muskel, besonders deutlich die Spiralfasern der Ganglienzellen, Nervenfibrillen, einzeln und verschmolzen im Achsenraum der markhaltigen Fasern u. s. f.

Mit Methylenblau ist auch eine Färbung überlebender Gewebe möglich. Solche Präparate kann man wenigstens einige Zeit in Jod-Jodkalium (siehe dieses) oder in pikrinsaurem Ammoniak aufbewahren. Auch die folgende Flüssigkeit wurde vor kurzem empfohlen.

Koncentrierte Ammoniaklösung in Wasser wird zur Hälfte

mit Glyzerin versetzt und dieses sehr allmählich den Präparaten zugesetzt (S. Mayer).

[§ 441] Henle-Merkelsche Methode zur Darstellung der Nervenfasern im Centralnervensystem.

Stücke des Centralnervensystems werden in der gewöhnlichen Weise erst in Müllerscher Flüssigkeit (siehe § 84), dann in Alkohol gehärtet, bis sie schnittfähig geworden sind. Die davon angefertigten Schnitte werden in Alkohol von ungefähr 94% eingelegt und können darin beliebig lange bleiben, jedenfalls aber müssen sie mindestens 10 Minuten in demselben verweilen. Dann wird der Schnitt herausgenommen, und man saugt mit Filtrierpapier oder einem Leinwandlappen den Alkohol rasch so weit auf, bis das Präparat beginnt trocken zu werden, und überträgt es in ein Schälchen mit Xylol. Hierin schwenkt man den Schnitt einige Augenblicke hin und her, bis er ein gleichmäfsiges Aussehen bekommen hat, und besieht ihn dann unter Xylol. Es ist nicht ratsam, die Untersuchung ohne Deckglas vorzunehmen, da sich das freiliegende Objekt durch die sehr rasche Verdunstung des Xylols bald verändert. An so behandelten Schnitten sieht man nur Achsencylinder eventuell auch Ganglienzellen glänzen, das Übrige, Kern und Gefäfse u. s. w. ist fast unsichtbar. Der Grund dieses verschiedenen Aussehens ist darin zu suchen, dafs das Wasser, das sich noch im Alkohol befindet, von den Achsencylindern und den Ganglienzellen hartnäckiger zurückgehalten wird, als von anderen Geweben. (Xylol mischt sich mit Wasser nicht.) Die Konservierung der Präparate kann nicht für längere Zeit geschehen, man kann sie aber in Canadabalsam bis zu 6 Wochen erhalten. Löst man den Canadabalsam nach der verflossenen Frist abermals auf und überträgt die Schnitte in obigen Alkohol, so kann man das Verfahren von neuem wiederholen.

[§ 442] Zum Zwecke der Darstellung der markhaltigen Fasern im Centralnervensystem hat die **Weigertsche Säure-Fuchsin-Methode**, die nur mehr historisches Interesse hat, eine neue Epoche eröffnet.

Die Färbung der Centralorgane mit saurem Fuchsin nach Weigert wird in folgender Weise ausgeführt. Schnitte, die nicht über 20 μ dick sein dürfen, kommen in eine gesättigte wässerige Lösung von saurem Fuchsin. Dann werden die Schnitte in einer grofsen Schale mit Wasser abgespült und man bringt diese in eine dritte Schale, welche eine alkoholische Kaliumlösung enthält. Man bereite sich diese folgendermafsen: 100 ccm absoluten Alkohols werden mit 1 g Kalium causticum fusum versetzt; 10 ccm dieser Lösung werden nach 24 Stunden zu 100 ccm absoluten Alkohols hinzugefügt. In diese letztere Flüssigkeit kommen die Schnitte aus dem Wasser, ein Teil des Farbestoffes verläfst in Form von Wolken die Schnitte und man wartet so lange, bis eine Differenzierung der grauen und weifsen Substanz erfolgt. (Die weifse Substanz erscheint röter wie die

graue.) Nun bringt man die Schnitte in eine Schale mit reinem Wasser, welches vollkommen säurefrei sein mufs. Man wäscht noch einmal mit reinem Wasser ab und sieht zu, ob die graue Substanz heller ist, als die weifse; ist das der Fall, so ist die Färbung gelungen, ist das aber nicht der Fall, so mufs man entweder das ganze Verfahren wiederholen oder den Schnitt in die Kaliumlösung zurückbringen und mit Wasser abspülen.

[§ **443**] Später fand Weigert selbst eine andere unter dem Namen **Weigertsche Hämatoxylin-Methode** bekannte Methode-

Die ursprüngliche Weigertsche Hämatoxylin-Methode bestand in folgendem: Schnitte in Müllerscher oder Erlickischer Flüssigkeit gehärteter Präparate, die braun, aber nicht grün sein dürfen (Celloidindurchtränkung ist zulässig), kommen in eine Hämatoxylinlösung

1 g Hämatoxylin,
10 g Alkohol und
90 ccm Wasser

(vor dem Gebrauch mufs die Lösung einige Tage stehen bleiben) auf drei Stunden im Thermostat, welcher auf ca. 40 bis 45° C. erwärmt ist; entsprechend länger (1 bis 2 Tage) bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Die schwarz gewordenen Schnitte werden oberflächlich mit destilliertem Wasser abgespült und in

Borax 2 g
Ferridcyankalium 2½ g und
Wasser 100 g übertragen.

In dieser Flüssigkeit vollzieht sich die gewünschte Differenzierung, und zwar in der Weise, dafs die graue Substanz gelb wird und die weifse dunkel bleibt. Unter Umständen erreicht man diese Differenzierung erst nach Stunden. Sämtliche Markscheiden erscheinen alsdann schwarz, die übrigen Elemente gelb bis bräunlich.

[§ **444**] Eine weitere Methode **Weigerts** ist die folgende:

Die mit Celloidin durchtränkten und auf Kork befestigten Stücke (siehe § 131) kommen in eine neutrale essigsaure Kupferoxydlösung (eine gesättigte Lösung des Salzes wird mit gleichem Volumen Wasser verdünnt) in einen Thermostat auf ein- bis zweimal 24 Stunden; die Stücke sehen nun dunkelgrün aus und der Celloidinmantel hellgrün. Nach dieser Procedur können die Schnitte in 80%igem Spiritus bis zum Schneiden aufbewahrt werden. Sind die Schnitte angefertigt, so kommen sie in folgende Hämatoxylinlösung (Weigertsches Hämatoxylin):

1 g Hämatoxylin,
10 ccm absoluter Alhohol,
90 » Wasser und
1 » gesättigtes Lithium carbonicum in Wasser.

In dieser Flüssigkeit verbleiben die Schnitte je nach dem Objekt 2 bis 24 Stunden (bei schwer sich färbenden Objekten auch im Thermostat bei 40° C.) und kommen dann in die Differenzierungsflüssigkeit, welche dieselbe wie bei der ersterwähnten Weigertschen Hämatoxylin-Methode geblieben ist, d. h.

2 g Borax,
2½ g Ferridcyankalium auf
100 ccm Wasser.

Vor dem Gebrauche wird der Farbe Essigsäure (einen Tropfen auf ein Uhrschälchen) zugesetzt.

Der Prozefs der Differenzierung dauert lange, mitunter Tage, und darf nicht eher unterbrochen werden, bis die weifse Substanz dunkel und die graue hell geworden ist.

[§ 445] Die **Palsche Methode**, die nichts anderes als eine modifizierte Weigertsche ist, liefert namentlich in Händen der Anfänger sicherere Resultate. Die Fixierung ist wie bei der eben erwähnten Methode; die Schnitte kommen entweder gleich in Hämatoxylin oder, wenn sie nicht genügend braun sind, den Stich ins Grüne zeigen, auf einige Stunden in ½%ige Chromsäure resp. in eine 2- bis 3%ige Kalium bichromicum-Lösung. Es werden nun die Schnitte in eine der folgenden Hämatoxylinlösungen übertragen, entweder Weigertsches Hämatoxylin (siehe § 444) oder

0,75 g Hämatoxylin,
10 » Alkohol,
90 ccm Wasser, unter Erwärmen lösen, und
2 » einer gesättigten wässerigen Lithiumcarbonicum-Lösung hinzufügen. Nach mindestens 24 Stunden bei Zimmertemperatur überträgt man die Schnitte in ¼%ige wässerige Kalium hypermanganicum-Lösung, die frisch bereitet werden mufs, auf 20 bis 30 Sekunden, und daraus in

Oxalsäure 1
Kalium sulfurosum 1 und
Wasser 200,

in welcher Flüssigkeit sich die Differenzierung vollzieht, in der Weise, dafs makroskopisch die graue Substanz farblos und die weifse dunkel erscheint; sämtliche Markscheiden sind dunkelblau, alles übrige farblos. Ein Nachfärben mit

anderen Farben, wie z. B. mit Eosin, Alaunkarmin u. s. w. ist nicht ausgeschlossen.

[§ 446] Der Weg, den wir vorschlagen würden und der unserer Meinung nach einfach und ebenfalls sicher zum Ziele führt, ist folgender:

Die Schnitte werden mit Erlickischer Flüssigkeit 1 bis 2 Stunden bei einer Temperatur von 40 bis 50° behandelt, sie bleiben nach einem ganz oberflächlichen Abspülen mit Wasser in

Hämatoxylin	1 g
Alkohol abs.	10 » und
Wasser	90 ccm,

ebenfalls 2 bis 3 Stunden in der oben angegebenen Temperatur; dann werden sie mit unterchlorigsaurem Natron (einige Tropfen einer Lösung mit 2%igem Chlorgehalt auf eine Uhrschale mit Wasser) behandelt, in welcher Flüssigkeit sich direkt die Differenzierung unter den Augen des Beobachters in kurzer Zeit vollzieht, in der Weise, dafs die Markscheiden gefärbt bleiben und alles übrige entfärbt wird.

Hat man nach irgend einer der citierten Methoden die Differenzierung der grauen und weifsen Masse erlangt, so werden die Schnitte sorgfältig mit destilliertem Wasser abgespült, entwässert und eingeschlossen.

[§ 447] Die letzt vorgetragene Methode hat Heilmeyer für die Darstellung der Gallenkapillaren in der Leber (siehe diese) vorgeschlagen.

[§ 448] Noch einfacher scheint folgende Mark-Methode, welche vor kurzem durch Kultschitzky vorgeschlagen wurde:

Objekte aus Müllerscher oder Erlickischer Flüssigkeit werden mit Celloidin durchtränkt, geschnitten und die Schnitte in die Hämatoxylinlösung übertragen.

1 g Hämatoxylin wird in ein paar ccm Alkohol vollkommen gelöst und zu 100 ccm einer 20%igen Borsäurelösung hinzugefügt. (Diese Hämatoxylinlösung wird vor dem Gebrauch mit 2—3 Tropfen Essigsäure auf ein Uhrschälchen angesäuert.) Oder noch einfacher:

Man löse 1 g Hämatoxylin in ein paar ccm Alkohol und füge hinzu 100 ccm einer 2%igen wässerigen Essigsäurelösung.

Es erscheinen nach 24 Stunden sämtliche Markscheiden dunkelblau, alles übrige fast ungefärbt mit einem Stich ins Rötliche.

[§ 449] Flechsig hat darauf aufmerksam gemacht, dafs bei Embryonen, Föten und jungen Tieren bestimmte Bahnen später als andere markhaltig werden, und darauf eine Methode für das Studium des Faserverlaufs im Centralnervensystem gegründet.

8. Kapitel.

Herz, Blutgefäfse und deren Verteilung, Lymphgefäfse und Saftkanäle.

[§ 450] Um die Anordnung und die gegenseitige Lage der verschiedenen Gewebsteile, welche die Herzwand zusammensetzen, kennen zu lernen, ist es nötig, Schnitte durch die Herzwand anzufertigen, die man in beliebiger Weise (Müllersche Lösung, Chromsäure, Alkohol etc.) fixiert und weiter behandelt hat. Für die Isolation von Purkinjeschen, glatten und Herzmuskelzellen verfahre man nach § 394 ff.

[451] Das Endo- und Perikard können (siehe § 277) versilbert werden, mit der Pincette abgezogen (oder durch Flächenschnitt mit dem Rasiermesser als dünne Lamelle abgetragen) und in Glycerin eingeschlossen werden.

[§ 452] Gröfste und grofse Gefäfse härte man beliebig und schneide sie in Celloidin.

[§ 453] Die Media dieser Gefäfse wird mit Kali- (Natron) lauge, $^1/_3$ Alkohol (24 Stunden und länger) oder einer 1 %igen Weinsäure einige Stunden behandelt; es lassen sich nach dieser Vorbehandlung **elastische** Elemente — **Platten, Netze und Fasern** durch sorgfältiges Spalten und Zupfen stellenweise isolieren.

[§ 454] Mittlere Arterien und Venen werden geschnitten und mit Pikrokarmin (siehe § 246) z. B. tingiert (Muscularis).

[§ 455] Feine Querschnitte durch getrocknete Gefäfse werden auf 24 Stunden in eine schwache Böhmersche Hämatoxylinlösung gebracht, daraufhin auf einige Minuten in Essigsäure (unverdünnt) und dann ebenso lange in eine schwache Pikrinsäure. Die Schnitte werden ausgewaschen und entweder in Glycerin oder Canadabalsam aufbewahrt. Die Muskeln erscheinen violett, das Bindegewebe rotbraun und das elastische Gewebe gelb. (Gerlach.)

[§ 456] Kleine und kleinste Gefäfse (ohne vasa vasorum mit einer dünnen [aus einer Reihe Muskelelemente] bestehenden Media, in der Arterie zirkulär und der Vene der Länge nach verlaufend) studiert man sehr bequem an Zupfpräparaten der weifsen resp. grauen Substanz des Centralnervensystems, wo sie als willkommene Nebenprodukte erscheinen. Dieselben, aber auch die kleinsten der mittleren studiere man an Schnitten durch verschiedene Organe, vornehmlich an denen der Lunge, die in der Nähe des Hilus derselben gewonnen werden.

[§ 457] Man kann die Kapillaren und allenfalls kleine Arterien und Venen, an etwas nachgedunkelten

versilberten (siehe § 277) dünnen Lamellen, die mit Hämatoxylin nachgefärbt worden sind, untersuchen.

Noch bessere und sicherere Resultate für die Untersuchung derselben Objekte erhält man, wenn man einem durch Chloroform getöteten Frosch z. B., den man durch Abschneiden der Herzspitze verbluten lieſs, eine dünne (1 ‰ige) Silbernitratlösung in die Gefäſse einspritzt, bis das ganze Gefäſssystem gefüllt ist (Frosch 10 bis 15 ccm). Von so vorbehandelten Fröschen können Mesenterien, Lungenalveolen, Harnblase entnommen, abgespült, mit Alkohol gehärtet und eingeschlossen werden; solche Präparate zeigen auſser den Endothelien die Grenzen der glatten Muskeln, und an optischen Längsschnitten sieht man bei einer gewissen Übung fast ebenso viel, wie an natürlichen.

[§ 458] Nicht injizierte Kapillaren kollabiren in dem Maſse, daſs man sie als solche nicht mehr in Schnitten alle erkennen kann. Um die Verbreitung derselben zur Anschauung zu bringen, injiciert man **die Gefässe.**

Die Injektionstechnik ist zu einem besonderen umfangreichen Zweige der mikroskopischen Technik herangewachsen. Wir müssen deshalb von der Schilderung der Injektionsapparate, Technik des Einführens und Befestigens der Kanüle etc. absehen und begnügen uns mit der Angabe zweier wohlerprobter Injektionsmassen: einer roten und einer blauen.

[§ 459] Es ist dies zunächst die G e l a t i n e - K a r m i n l ö s u n g. Sie wird folgendermaſsen hergestellt: Man bereite sich einen Karminbrei (etwa 4 g Karmin und 8 ccm Wasser. Zu diesem Karminbrei gieſse man so viel Ammoniak hinzu, wie nötig ist, um den Karmin in Lösung zu bringen, was daran zu erkennen ist, daſs das ganze lackfarben wird. Andrerseits lege man etwa 50 g Gelatine in destilliertes Wasser und lasse sie darin etwa 24 Stunden aufquellen. Ist die Gelatine aufgequollen, so erwärme man dieselbe auf dem Wasserbade auf etwa 60° C. und sorge dafür, daſs die Gelatine nicht überwärmt werde; ist sie geschmolzen, so füge man unter beständigem Umrühren so viel von dem Karminbrei hinzu, als nötig ist, um eine bestimmte Farbenintensität zu erzielen. Man mische sorgfältig mit einem Glasstabe, bis sich der Karmin gleichmäſsig in der Gelatinemasse verteilt hat. Nun tröpfle man in diese Lösung eine etwa 25%ige Essigsäurelösung unter beständigem Umrühren hinzu, bis die dunkel-kirschrote Lackfarbe in eine ziegelrote überzugehen anfängt. Ist das der Fall, so ist die Masse neutral und man kann sie durch Flanell filtrieren.

Will man ganze Tiere injizieren, so empfiehlt es sich, die Kanüle der Spritze durch das linke Herz in die Aorta einzuführen und so einzubinden, daſs ein Ausfluſs der zurückflieſsenden Masse durch das rechte Herz möglich ist. Man injiziere langsam unter sehr mäſsigem Druck. Die Masse wird in warmem

Zustande einem vorher auf 37—38° C. in warmem Wasser gewärmten Tiere injiziert. Die so injizierten Stücke werden in Spiritus gehärtet.

[§ 460] Das im Wasser lösliche **Berlinerblau** in einer im Wasser gesättigten Lösung zu der wie im § 459 hergestellten Gelatine in der Wärme hinzugesetzt, liefert eine blaue Injektionsmasse (Ranvier). Hat man kein lösliches Berlinerblau, so kann man es sich in folgender Weise beschaffen (nach Ranvier). Man giefse gelbes Blutlaugensalz und Ferrosulfat in bestimmten Proportionen zusammen, es bildet sich ein blauer Niederschlag von unlöslichem Berlinerblau. Man filtriere die Flüssigkeit und die blaue Masse bleibt selbstverständlich auf dem Filter. Nun wasche man die auf dem Filter gebliebene Masse mit Wasser bis das Filtrat blau gefärbt erscheint. (Es dauert unter Umständen 24 Stunden und länger.) Das unlösliche Berlinerblau ist nun löslich geworden und die auf dem Filter gebliebene breiige Masse kann getrocknet und als lösliches Berlinerblau benutzt werden.

Die Berlinerblau-Injektion läfst ein nachheriges Fixieren mit Chromsäure zu.

[§ 461] Es ist vor Jahren von Altmann ein Verfahren vorgeschlagen worden, das im folgenden besteht:

Man injiziert Gefäfse etwa mit Olivenöl; so injizierte Membranen werden mit Osmiumsäure (siehe § 89) behandelt, wobei sich die injizierten Gefäfse schwarz färben. Die nicht durchsichtigen, massigen Organe können auf einem Gefriermikrotom in dünne Scheiben zerlegt werden, worauf sie ebenfalls in Osmiumsäure (1 % auf 24 Stunden) kommen. Es werden dabei die mit Öl gefüllten Gefäfse schwarz. Diese mit Osmiumsäure fixierten schwarzen Ölstränge (Gefäfse) sind sehr widerstandsfähig geworden und man kann allerdings mit grofser Vorsicht solche Schnitte auf dem Objektträger mit Eau de Javelle behandeln, wobei sämtliche Gewebsteile gelöst werden. Auf diese Weise ist man im Stande, reine mikroskopische Korrosionspräparate der kleinsten Gefäfse und Kapillaren zu erhalten.

Solche Präparate können auch durch Wasser in Glycerin oder durch Alkohol in Canadabalsam übergeführt werden. diese Procedur erfordert aber eine besondere Sorgfalt, da die Präparate ungemein brüchig werden.

[§ 462] Eine andere Methode, die sogenannte Fett-Imprägnation der Lymphwege ist ebenfalls von Altmann angegeben. Man bereite zu diesem Zwecke entweder:

1)	Olivenöl	1	Volumen,
	Alkohol abs.	1/2	,,
	Schwefeläther	1/2	,,

das Ganze mufs klar aussehen, oder

2) Ricinusöl 2 Volumina,
Alkohol abs. 1 Volumen.

Man lege frische Gewebsstücke, z. B. Hornhaut, in nicht zu wenig Mischung 1 oder 2. Nach 5 bis 8 Tagen kommen die betreffenden Stückchen aus dem Gemisch 1 oder 2 direkt auf einige Stunden in Wasser, wobei die äufserlich anhaftenden Fetteilchen abgespült und die in den Kanälen enthaltenen niedergeschlagen werden. Es kommen die Gewebsstücke auf 24 Stunden in eine 1%ige Osmiumsäure und können wie bei den Gefäfsen, entweder direkt mit Aqua Javelli korrodiert werden, oder, wenn nötig, erst nachdem sie auf einem Gefriermikrotom geschnitten worden sind.

Will man die Korrosion möglichst sorgfältig machen und auf längere Zeit ausdehnen, so kann man Aqua Javelli mit 1 oder 2 Volumen Wasser verdünnen.

[§ **463**] Um Lymphkapillaren resp. Lymphspalten zu injizieren, ist die Methode der Injektion durch Einstich eingeführt worden, die entweder mit Berlinerblau (siehe § 460) geübt wird, oder mit wässeriger Silbernitratlösung 1 : 1000 oder aber mit Silbernitrat, gelöst in Gelatine (1/4 auf 100). (Chrzonszczewsky.)

9. Kapitel.

Lymphdrüsen und Milz.

[§ **464**] Für die grobe Orientierung über den Bau der Lymphdrüsen genügen Schnitte durch kleinere Drüsen, die dem Mesenterium, einer Katze etwa, entnommen und mit Alkohol, Flemmingscher Flüssigkeit, Sublimat, Pikrinsäure fixiert worden sind.

An Schnitten, die gefärbt worden sind, am zweckmäfsigsten mit Hämatoxylin und Eosin, kann man sich bequem über die Verbreitung der Mark- und Rindensubstanz orientieren, die Trabekel und die Kapseln erscheinen in der Eosinfarbe.

Um das Endothel der Trabekel zur Darstellung zu bringen, spritze man von einem vas efferens aus oder einfacher durch Einstich in die Lymphdrüse eine schwache 1/10%ige Silbernitratlösung ein, es wird die Drüse nun in Alkohol fixiert. Schnitte, die nicht unter 15 μ dünn sein dürfen, zeigen die bekannte Endothelzeichnung auf den Trabekeln.

[§ **465**] Für das Studium der Keimcentren Flemmings empfehlen sich neben den Lymphdrüsen selbst die solitären

Follikel des Darmes, sie werden vorher mit Flemming-scher Lösung, aber auch mit Pikrinsäure etc. fixiert und mit Safranin gefärbt.

[§ 466] Das adenoide Gewebe, welches an Schnittpräparaten nur wenig oder gar nicht zu sehen ist, kommt erst dann zu Gesicht, wenn man die Zellen auf irgend eine Weise entfernt.

Schnitte durch Lymphdrüsen, die entweder frisch oder mittels eines Gefriermikrotoms angefertigt worden sind, werden auf einem Objektträger mit wenig Flüssigkeit ausgebreitet und mit einem feinen Malerpinsel betupft; die Leukocythen bleiben am Pinsel zum Teil hängen und man kann das Präparat nachträglich etwa mit Hämatoxylin, färben, wobei sich die adenoiden Netze blau tingieren. Pinselmethode. (His.)

Aber auch an zuvor gehärteten Präparaten, die geschnitten worden sind und einige Zeit im Wasser gelegen haben, kann man das Pinseln sowohl, wie die nächstfolgende Methode üben; sie ist ebenfalls von His angegeben und besteht darin, dafs man Schnitte in einem zur Hälfte mit Wasser gefüllten Probiergläschen einige Zeit schüttelt. Setzten wir zum Wasser Froschgalle zu, so schien es uns, als ob wir in kürzerer Zeit bessere Resultate erzielten; es ist nicht unmöglich, dafs ein Teil der in den Maschen des Retikulums gelegenen Elemente sich in der Galle löst. Bei dieser Procedur werden die meisten Leukocythen entfernt, und wenn man nun die Schnitte ausbreitet und färbt, so sieht man deutlich das retikuläre Bindegewebe.

[§ 467] Auch durch Verdauen der Schnitte mit Trypsin kann man das retikuläre Bindegewebe darstellen (siehe § 332).

[§ 468] Für die Untersuchung der Zellen würde man die verschiedenen Färbungen anzuwenden haben, die bei der Untersuchung der Lymphe (siehe § 287 ff.) verwandt werden, auf Schnitten, oder indem man durch Abschaben einer frischen Schnittfläche sich Material verschafft, welches man ganz in der Weise, wie es bei der Lymphe gesagt worden ist, behandelt.

[§ 469] Die Methode der Untersuchung der Milz ist ganz dieselbe.

Die Injektion der Milzgefäfse gehört zu den schwierigsten Problemen der Injektionstechnik, was durch eigentümliche Blutzirkulationsverhältnisse der Milz bedingt ist.

10. Kapitel.

Darm und Drüsen.

[§ 470] Die **Mundhöhlenschleimhaut** wird in der gewöhnlichen Weise fixiert, also z. B. mit Alkohol, Chromsäure, Flemmingscher Lösung und bietet an mit Karmin u. s. w. gefärbten Präparaten ganz instruktive Orientierungsbilder.

Faſst man Specielles ins Auge, will man beispielsweise das Epithel oder die Drüsen u. s. w. eingehender untersuchen, so würde man dementsprechend die Methoden zu modifizieren haben.

[§ 471] Die Papilla circumvallata und foliata (selten fungiformis) sind Träger von **Geschmacksknospen**, welche aus Stütz- und Sinneszellen zusammengesetzt sind, diese werden bei weitem am besten mit der Flemmingschen Lösung fixiert. Müllersche Lösung und Chromsäure liefern unbrauchbare Bilder.

Dünne Schnitte, die entweder längs durch den Becher oder quer durch denselben geführt worden sind, werden entweder mit Heidenhainscher Hämatoxylinlösung oder mit Safranin-Gentianaviolett (siehe § 584) gefärbt.

Will man die Nerven bis zu den Schmeckbechern resp. den Epithelien verfolgen, so verfährt man in folgender Weise:

Eine Papilla foliata eines Kaninchens wird mit einem Rasiermesser flach abgeschnitten, die Muskeln nach Möglichkeit entfernt. Dann wird dieselbe in vorher filtrierten Citronensaft auf 10 Minuten eingelegt, und auf 40 bis 60 Minuten in Goldchlorid übertragen. Überträgt man nun die Papille in ein schwach mit Essigsäure angesäuertes Wasser, so vollzieht sich die Reduktion im Lichte (Ranvier) und es kann das Objekt in Alkohol nachgehärtet und dann senkrecht auf die Leisten der Papille geschnitten werden. Nachdem die Schnitte eine kurze Zeit mit Ameisensäure, worin sie etwas quellen, behandelt worden sind, wird das Präparat in Glycerin eingeschlossen.

[§ 472] **Ösophagus.** Für Übersichtsbilder wähle man den Oesophagus kleinerer Tiere. Von gröſseren Säugern muſs man entweder die Schleimhaut abpräparieren oder mit Celloidin durchtränken, da sich Schnitte z. B. durch ein Segment des ganzen Ösophagus des Menschen in Paraffin nur schwer schneiden lassen.

[§ 473] Für alle **Drüsen** achte man darauf, daſs man es hier nicht mit in gleichem Zustande bleibenden Gebilden zu thun hat. Die Drüsenzelle bietet ein ganz anderes Bild,

wenn sie secerniert oder einige Zeit secerniert hat, als in der Ruhe.

Die Drüsenzellen ändern sich fortwährend. Man wird daher einzelne Stadien derselben herauszugreifen und besonders zu untersuchen haben, z. B. für Magen im 1., 2. und 3. Verdauungsstadium (siehe physiologische Handbücher) und die verschiedenen Resultate vergleichend studieren.

Solches Material verschafft man sich, indem man Tiere zunächst hungern läfst, dann füttert und nach bestimmten Zeiten tötet. Hiezu eignen sich am besten Hunde. Kaninchen oder Mäuse mit leerem Magen zu bekommen, ist schwieriger. Frösche kann man künstlich mittels eines kleinen Glastrichters z. B. mit defibriniertem Blut füttern.

Die verschiedenen Stadien kann man auch erzeugen, indem man bestimmte Reize einwirken läfst, z. B. Nervenreizung und gewisse Gifte.

Von praktischer Bedeutung für die histologische Untersuchung sind in erster Linie Pilokarpin und Atropin.

[§ 475] Für **Magen und Darm** dienen die gewöhnlichen Fixierungsmethoden, vor allem Sublimat. Stets lege man einige Kontrollstücke in Alkohol ein. Man nehme möglichst frische Objekte, bei welchen noch keine Selbstverdauung stattgefunden hat. Man fixiere kleinere Stücke ganz oder schneide den Darm auf. Abwaschen mit Wasser kann schaden.

Will man gröfsere Darmstücke in toto fixieren, so fülle man den Darm mittels einer Spritze, die man in das eine Ende einbindet mit Fixierungsflüssigkeit, z. B. Chromsäure, nachdem man das andere Ende zugebunden hat; ist er mässig gefüllt, so binde man vor der Spritze auch zu und lege den Darm in eine reichliche Menge Fixierungsflüssigkeit. Beim Auswässern werden die beiden unterbundenen Enden abgeschnitten.

[§ 476] Für Untersuchung der Mucosa empfiehlt es sich, dieselbe mit einem scharfen Messer abzupräpariren und dann mit Nadeln auf einer Korkplatte auszuspannen. Die Korkplatte läfst man auf der Fixierungsflüssigkeit mit der Präparatseite nach unten schwimmen.

[§ 477] **Magen-Belegzellen.** Schnitte der in Alkohol oder Sublimat fixierten Fundusschleimhaut werden 1 bis 1½ Minuten in Böhmersches Hämatoxylin gebracht, einige Sekunden in äufserst verdünnte Salzsäure, sodann mehrere Minuten in Wasser, oder wenn man eine stärkere Blaufärbung der Kerne und der Hauptzellen beabsichtigt, direkt im Wasser abgespült. Darauf kommen sie für 2 bis 5 Minuten

in eine verdünnte (im Uhrschälchen sattrot aber gut durchsichtige) wässerige Lösung von Kongorot, aus dieser so lange in Wasser oder verdünnten Alkohol, bis das zunächst überfärbte Präparat genügend ausgezogen erscheint. Absoluter Alkohol zieht den Farbstoff äufserst langsam aus.

[§ 478] Behandelt man (vgl. das Kapitel Blut) die in dieser Weise tingierten Schnitte, am besten wenn sie stundenlang in absolutem Alkohol verweilt haben, eine Zeit lang (1/2 Stunde oder eventuell länger) mit verdünntem Alkohol (ca. 70 %) so geben die Belegzellen ihren roten Farbstoff wieder ab, in der Fundus- und Pylorusschleimhaut des Schweins aber finden sich, und zwar im inter- und subglandulären Bindegewebe, sowie in der Submucosa rundliche ovale Zellen mit rötlich-braun gekörntem Protoplasma, deren Kerne mit Hämatoxylin gefärbt sind (kongophile Zellen). Dieselben lassen sich auch mit Kongo allein färben und zeigen dann einen ungefärbten Kern. Da sich neben diesen Zellen auch Mastzellen mittels der Ehrlich-Westphalschen Mischung (siehe § 309) zur Anschauung bringen lassen, die sich auch ihrer Form nach wesentlich unterscheiden, können die kongophilen Zellen nicht mit letzteren identisch sein. Dagegen lassen sich auch durch Färbung mit Eosin Zellen darstellen, welche den mit Kongo gefärbten der Zahl, Verteilung und Form nach völlig entsprechen. Da die kongophilen Zellen ferner auch im Blut und in den Gefäfsen (auf Schnitten) gefunden werden, dürften sie wohl identisch sein mit Ehrlichs »eosinophilen« Zellen (siehe § 307) (Stintzing).

[§ 479] Nach der von Garbini (siehe § 258) angegebenen Färbemethode färben sich bei Vorbehandlung mit Flemming Hauptzellen rot, Belegezellen blau.

[§ 480] Magen- und Darm**epithelien** können mittelst der in § 270 ff. angeführten **Isolationsmethoden** untersucht werden, besonders eignet sich hierfür die 1‰ige Osmiumsäure.

[§ 481] **Zotten** können **frisch** untersucht werden in indifferenten Lösungen, und namentlich eignen sich die Zotten von Mäusen und Ziegen hiefür.

[§ 482] Bei Schnitten, mit Flemmingscher Lösung behandelten Objekten entnommen, mit Gentiana oder Safranin gefärbt, erscheint der Inhalt der **Becherzellen** ganz auffallend intensiv blau resp. rotbraun. Das Gerüstwerk in den Becherzellen tingiert sich ebenfalls mit Bismarckbraun.

[§ 483] Material für **Follikeluntersuchung** (siehe auch § 465). Besonders geeignet sind Peyersche Plaques, welche makroskopisch gesucht, ausgeschnitten und z. B. mit Flemmingscher Lösung behandelt werden. Kaninchen, Meerschweinchen.

So behandelte Follikel können geschnitten und nach Garbini (s. § 258) gefärbt werden, wobei man den innigen Zusammenhang

zwischen den basalen Enden des Epithels und dem darunter liegenden Gewebe sieht (namentlich in Canadabalsampräparaten).

Bilder über die **Fettresorption** erhält man an mit Flemmingscher Lösung behandelten Darmstücken, doch beachte man § 335.

[§ 484] **Drüsen** können an geeigneten Objekten **frisch** untersucht werden, z. B. Schleimdrüsen an der Nickhaut des Frosches.

[§ 485] Pankreasstücke, in physiologischer Kochsalzlösung vorsichtig ausgebreitet, lassen die Körnchen der Innenzone erkennen. (Kühne und Lea.)

[§ 486] Zur Fixierung kleiner Stücke von Speicheldrüsen verwende man Flemmingsche Lösung, oder auch Sublimat.

[§ 487] Zur Färbung der **Gianuzzischen Halbmonde** empfehlen sich Doppelfärbungen von mit Alkohol, Sublimat etc. fixierten Stücken, z. B. Hämatoxylin- und Eosinfärbung, wobei die Halbmonde blau erscheinen.

[§ 488] Die Strichelung der basalen Teile der **Ausführungsgänge** der Speicheldrüsen, sowie auch des Pankreas sieht man am besten an mit Osmiumsäure und mit Osmiumsäuregemischen behandelten ungefärbten und in Glycerin eingeschlossenen Präparaten; in Canadabalsam auch an gefärbten Präparaten weniger deutlich.

[§ 489] Um die **Innen- und Aussenzone des Pankreas** durch Färbung darzustellen, gibt es zwei Wege, entweder färbt man die Innenzone oder die Aufsenzone.

[§ 490] Zur Färbung der Aufsenzone hat Heidenhain vorgeschlagen, in Alkohol fixierte Stücke mit ammoniakalischem Karmin zu färben (Boraxkarmin gibt ebenfalls gute Resultate).

[§ 491] Zur Färbung der Körnchen der Innenzone empfehlen sich für Sublimatpräparate Methylgrüneosin-Mischung (siehe § 259) oder Methylgrün-Fuchsin- S.-Mischung (siehe § 260).

In beiden Fällen werden die Körnchen rot, während die Aufsenzone hell bleibt. Material: besonders geeignet sind Amphibien (Salamander), aber auch Säugetiere, besser im Hungerzustand.

Bei Behandlung mit Flemmingscher Lösung, Färbung mit Safranin und Auswaschen mit Pikrinsäure färben sich die Körnchen der Innenzone rot.

[§ 492] Auerbachscher und Meifsnerscher Plexus.

Beide lassen sich an aufgespannten Darmstücken mit der Goldmethode darstellen. Aber auch in Alkohol gehärtete auf-

gespannte Darmstücke, die mit schwachen Hämatoxylinlösungen z. B. der Ehrlichschen (siehe § 235) gefärbt werden, zeigen mitunter in blauer Farbe die genannten Plexus.

11. Kapitel.

Leber.

[§ 493] Bei der Wahl des Materials für **Übersichtsbilder** wähle man zunächst die leicht zu erlangende Schweineleber. Diese zeigt annähernd kugelige Läppchen, die durch sehr viel interlobuläres Bindegewebe von einander geschieden sind. Die Leber des Menschen (Ochs, Kaninchen, Meerschweinchen etc.) zeigen keineswegs so gut abgegrenzte Läppchen, diese konfluieren sehr oft mit einander zu zwei, ja zu drei Läppchen, die dann gemeinsam vom interlobulären Bindegewebe umgeben werden, welches unter Umständen sehr schwach entwickelt ist.

Das Besehen der Leber von Embryonen und der Föten bietet insofern ein Interesse, als man dabei erfährt, dafs die Gliederung in Läppchen noch weniger ausgeprägt ist. In solchen Lebern ist der netzförmige Drüsentypus ein sehr ausgeprägter und es sind gewöhnlich die perivaskulären Räume deutlich wahrzunehmen.

[§ 494] Die Wahl der Methoden richtet sich danach, ob man die Leberzellen, die Blutgefäfse, die Gallenkapillaren oder das Bindegewebe der Leber im Auge hat. Instruktive Übersichtsbilder liefern fast alle für allgemeine Zwecke gebräuchlichen Fixierungsmethoden. Man vermeide jedoch die chromsauren Salze, weil die Leberzellenkerne auffallend wenig Chromatin enthalten, und dieses in chromsauren Salzen sich löst. Hämatoxylinfärbungen liefern die instruktivsten Bilder. Mit Osmiumsäure und Flemmingscher Chrom-Essig-Osmium-Säure erzielt man in den Leberzellen die Differenzierung, in Proto- und Paraplasma Kupffers.

[§ 495] Die **Blutgefässe** der Leber werden gewöhnlich von der Pfortader aus injiziert (siehe § 458).

[§ 496] Auch die **Gallenwege** kann man vermittelst der Injektionsmethode zur Darstellung bringen, am besten mit in Wasser löslichem Berlinerblau, und zwar mit einer koncentrierten Lösung. Man injiziert entweder vom ductus hepaticus oder vom ductus choledochus aus. Die Injektionsmasse gerät im letztern Falle zunächst in die Gallenblase und erst, nachdem diese prall gefüllt ist, verbreitet sie sich durch den ductus hepaticus in die Leber. Es wird auf diese

Weise ein zu hoher Druck unmöglich, da die Gallenblase, die Regulierung des Druckes übernimmt. Die Resultate dieser Injektion sind gar zu oft nicht befriedigende. Man hat mit Extravasaten zu kämpfen und im günstigsten Falle sind an ganz beschränkten Stellen der Leber kleine Distrikte des Läppchens, gewöhnlich die der Peripherie, injiziert. Es lassen sich aber die Gallenkapillaren durch Färbung darstellen.

[§ 497] Für **Darstellung der Gallenkapillaren** durch Tinktion bediene man sich der von Heilmeyer aufgefundenen Methode.

Die mit Alkohol oder Pikrinschwefelsäure gehärteten Leberstücke werden geschnitten (man vermeide die Paraffindurchtränkung), mit destilliertem Wasser gewaschen und mit Erlickischer Flüssigkeit (siehe § 84) bei einer Temperatur von 50° (Thermostat) 1/2 Stunde behandelt. Haben die Schnitte samt der Flüssigkeit wieder die Temperatur des Arbeitsraumes angenommen, werden sie in einer Hämatoxylinlösung:

0,5 g Hämatoxylin
5 ccm abs. Alkohols
100 ccm destillierten Wassers

ebenfalls bei einer Temperatur von 50° C 1/2 Stunde lang gefärbt. Die weitere Behandlung geschieht konform nach der von Pal (siehe § 445) angegebenen Methode oder mit der angesäuerten wässerigen unterchlorigsauren Natronlösung.

20 ccm destill. Wassers
10 Tropfen Salzsäure
20 Tropfen unterchlorigsauren Natrons mit 2% freiem Chlor, bis sie eine graugelbe Farbe angenommen haben. Die Anwendung der Entfärbungs- (resp. Differenzierungsflüssigkeit) ist, für die Leber, eine schwierige und erfordert deshalb viel Übung, da man mit bloſsem Auge, wie es beispielsweise beim Rückenmark der Fall ist, die Kontrolle nicht zu üben vermag. Ist die Färbung gelungen, so erscheinen die Gallenkapillaren dunkelbraun bis schwarz gefärbt. Die Kerne der Leberzellen sind ebenfalls dunkel tingiert.

Bei nicht genügend ausgezogenen oder differenzierten Schnitten färben sich auch Protoplasmastrukturen der Leberzellen in einer noch nicht untersuchten Weise.

Eine vorhergehende Injektion der Gefäſsbahnen, z. B. mit Berlinerblau-Gelatine ist bei dieser Methode zuläſsig, man bekommt

alsdann neben den injizierten Gefäfsbahnen tingierte Gallenkapillaren.

[§ 498] Eine andere historisch ältere ist die sogenannte Methode der physiologischen Selbstinjektion, von Chrzonszczewsky angegeben. Man injiziert in die vena jugularis ext. eine gesättigte wässerige Lösung des Indigokarmins (Hund auf einmal je 50 ccm, Katze 30 ccm, erwachsenes Kaninchen 20 ccm) dreimal im Laufe von 1½ Stunden. Nach Verlauf dieser Zeit tötet man das Tier und fixiert kleinere Leberstücke mit absolutem Alkohol, Chlorkalium, oder indem man die Blutgefäfse der Tiere mit einer gesättigten wässerigen Chlorkaliumlösung von der Pfortader aus ausspritzt. Man kann auch nachträglich die Gefäfse mit Karminleim injizieren und mit Alkohol härten; man bekommt alsdann mit Indigokarmin natürlich injizierte Gallenkapillaren und mit Karminleim injizierte Blutgefäfse neben einander.

Schneidet man die so fixierte Leber, so findet man die Gallenkapillaren, falls die Zeit des Abtötens gut getroffen wurde, gefüllt mit Indigokarmin, welcher aus den Blut- und Lymphbahnen durch die Leberzellen in diese ausgeschieden worden ist.

[§ 499] Beim Frosch läfst sich das Ganze noch einfacher machen: Man injiziert in den Lymphsack des Frosches etwa 2 ccm einer wässerigen Indigokarminlösung; nach ein paar Stunden wird das Tier getötet und die Leber, wie eben angegeben, fixiert und weiter behandelt.

[§ 500] Darstellung der **Gallenkapillaren** mit **chromsaurem Silber.** Frische Leberstücke, die nicht mehr wie 1 ccm grofs sein dürfen, werden auf 3mal 24 Stunden in folgende von Ramon y Cajal für andere Zwecke angegebene Flüssigkeit übertragen. 3%ige Lösung von Kalium bichromicum 4 Volumina, 1%ige Überosmiumsäure-Lösung 1 Volumen. Hieraus auf 24 bis 48 Stunden in eine ¾%ige wässerige Silbernitrat-Lösung. Die Stücke werden alsdann mit destilliertem Wasser gewaschen, in Alkohol nachgehärtet und geschnitten. Die Gallenkapillaren erscheinen deutlich markiert.

[§ 501] Ein Stück Leber eines frisch getöteten Tieres wird mit Kalium bichromicum in von 2 auf 5% rasch ansteigender Lösung fixiert. Nach drei Wochen bringe man das Stück in eine ¾%ige Lösung von Argentum nitricum. Nach wenigen Tagen, nach acht Tagen sehr ausgebreitet, färben sich die Gallenkapillaren.

[§ 502] Darstellung des **Bindegewebes der Leber.** Aus der frischen Leber mittels des Doppelmessers angefertigte Schnitte werden in 0,6%iger Kochsalzlösung

abgespült oder aber, und das empfiehlt sich mehr, eine viertel Stunde lang mit verdünnter Chromsäurelösung (0,05 %) behandelt, hierauf in eine stark verdünnte Goldchloridlösung nach Gerlachs Vorschrift

(1 Teil Goldchlorid
1 Teil Salzsäure und
10000 Teile Wasser)

übertragen und verbleiben in der Lösung, unter Ausschlufs des Lichtes, bis sie sich rot oder rotviolett gefärbt haben. Ist diese Färbung in 48 oder mehr Stunden erreicht, so sind die Schnitte unmittelbar zur Beobachtung zu verwenden.

Starke Lösungen des Goldsalzes von 1/4 bis 1/2 % und dementsprechend kürzere Behandlung der Schnitte mit der Lösung sind für den vorliegenden Zweck nicht geeignet. Das vorgängige Abspülen der Schnitte mit verdünnter Chromsäure ist keineswegs conditio sine qua non des Gelingens, trägt aber wesentlich dazu bei. Zur Untersuchung bringt man die Schnitte in angesäuertem Glycerin auf den Objektträger. (Kupffer.)

[§ **503**] Diese Methode, für welche man die Schnitte auch vermittelst des Gefriermikrotoms entnehmen kann, (P. Rothe) führt unter Umständen auch zur Darstellung der Sternzellen (Kupffer).

[§ **504**] Zur Darstellung von Bindegewebe durch Hämatoxylinfärbung verfährt man nach Heilmeyer, als ob man Gallenkapillaren (siehe § 497) darstellen wollte, jedoch mit folgenden zwei Modifikationen.

1. Man behandle die Schnitte mit Erlickischer Flüssigkeit und Hämatoxylin nicht bei 50°, sondern bei 70° C. und man wähle

2. eine etwas andere Hämatoxylinlösung:

(1 g Hämatoxylin
5 g abs. Alkohol
100 ccm Wasser).

Man würde also folgendermafsen zu verfahren haben. Mit Alkohol oder Pikrinschwefelsäure gehärtete Leberstücke (am besten nicht in Paraffin geschnitten) werden gewaschen und kommen auf eine halbe Stunde in Erlickische Flüssigkeit bei 70° C. Die ganz flüchtig abgespülten Schnitte kommen eine halbe Stunde lang in die eben erwähnte Hämatoxylinlösung in einem auf 70° C. gewärmten Thermostat. Nun werden sie entweder nach Pal weiter behandelt (siehe § 445), oder wie § 417 dargestellt worden ist, mit

unterchlorigsaurem Natron, bis die Schnitte gleichmäfsig aschgrau erscheinen. Alsdann erscheint das Bindegewebe und namentlich das intralobuläre in einer Tuschfarbe auf einem fast ungefärbten oder nur wenig gefärbten Grunde. Auch hierbei nehmen die Kerne etwas Färbung an.

[§ **505**] Frische Leberstücke, die nicht über 1 ccm grofs sein dürfen, kommen auf 2—3 mal 24 Stunden in ½ %ige Chromsäurelösung und dann auf 1—2 Tage in eine ½ %ige Silbernitratlösung. Die Stücke können, nachdem sie einige Minuten in destilliertem Wasser abgespült worden sind, mit Alkohol gehärtet und geschnitten werden. Das intralobuläre Bindegewebe erscheint bei durchfallendem Lichte schwarz auf farblosem Grunde.

[§ **506**] Eine sichere Methode ist die folgende: In Alkohol gehärtete Stücke der Leber werden auf 24 Stunden in eine ½ %ige wässerige Lösung von Kalium chromicum flavum gebracht. Man spüle sie dann mit einer sehr dünnen Höllensteinlösung (einige Tropfen einer ¾ %igen Lösung auf 30 ccm destillierten Wassers) ab und lege sie in eine ¾ %ige Lösung von Argentum nitricum. Nach 24 Stunden haben sich in der Leber intralobuläre Fasernetze gefärbt, welche die Blutkapillaren umspinnen. Die Stücke kommen einige Stunden in destilliertes Wasser, dann in Alkohol. Paraffin-Durchtränkung ist zuläfsig.

Für gröfsere Leberstücke, über 1 ccm, wende man eine stärkere Lösung von Kalium bichromicum flavum bis 4 % an. Stets sind nur die Randpartien des Stückes gefärbt. Die Schnitte sind daher bei gröfseren Stücken parallel zu einer Seite nahe der Oberfläche des Stückes zu entnehmen.

[§ **507**] Die bei der Lymphdrüse erwähnte Pinsel- resp. Schüttelmethode der Schnitte führt zur Darstellung des interlobulären Bindegewebes und eines Teils des intralobulären.

[§ **508**] Um das G l y k o g e n der Leber zu studieren, verfährt R a n v i e r folgendermafsen: Es wird ein Hund zwei Tage lang mit gekochten Kartoffeln gefüttert, die durch Zusatz von Fett schmackhafter gemacht werden, danach getötet und kleine Leberstücke mit einem Gefriermikrotom in Schnitte zerlegt. Die Schnitte werden in Jodserum (siehe § 72) gebracht und darin untersucht. Man findet zunächst das Glykogen in der Leberzelle in diffuser Form; es ballt sich aber später zu unregelmäfsigen Massen. Noch später tritt Glykogen auch an der Oberfläche der Leberzellen auf. Solche Schnitte, welche die Glykogenjodreaktion (weinrote Farbe desselben) zeigen, kann man mit Osmiumdämpfen räuchern und so 24—48 Stunden fixieren. Später verschwindet die weinrote Farbe gänzlich.

12. Kapitel.

Respirationsorgane. Thyreoidea und Thymus.

[§ 509] **Kehlkopf und Trachea** möglichst gesunder Tiere, die nicht alt sein dürfen, werden am besten in der Flemmingschen Flüssigkeit fixiert, aber auch andere Fixierungsmittel, wie z. B. Sublimat, Chromsäure und auch Alkohol geben ganz befriedigende Bilder.

Kehlköpfe, auch Trachea älterer Thiere sind häufig verkalkt, daher schwer im Ganzen zu schneiden. Bei solchen präpariere man die Schleimhaut nach dem Fixieren sorgfältig los und durchtränke und schneide diese allein. Oder aber man durchtränke zunächst den Kehlkopf ganz mit Paraffin und schäle dann mit einem Messer die harten Knorpelpartien ab, letzteres Verfahren gibt bessere Resultate.

Die mit der Flemmingschen Flüssigkeit (siehe § 95) vorbereiteten Stücke werden in Schnitte zerlegt und mit Safranin tingiert. Aufser der Kerntinktion des Safranins erhält man bräunlich tingierte Becherzellen und rotbraun tingierte elastische Netze des Stratum proprium der Mucosa und der Submucosa.

Nach Sublimat, Chromsäure und Alkohol kann man mit Erfolg die Stückfärbung mit Borax-Karmin anwenden.

[§ 510] Fafst man speciell das Studium der Drüsen ins Auge, so färbe man mit Hämatoxylin und kombiniere diese Färbung eventuell mit Eosin (siehe § 251).

[§ 511] Selbstverständlich kann das Flimmer- und Pflaster-Epithel der Respirationswege im frischen Zustande sowohl, als auch maceriert (Vorzügliches leistet Ranvierscher $^1/_3$ Alkohol) beobachtet werden. (Siehe § 268 ff.)

[§ 512] Die Wahl des Materials für die Untersuchung der **Lunge** mufs mit besonderer Sorgfalt getroffen werden, da man sehr oft, namentlich bei Kaninchen, abnorme Verhältnisse antrifft.

Um den Zusammenhang kleinster Bronchien des Alveolargangs mit dem Trichter zu sehen, empfiehlt es sich, Schnitte senkrecht auf die Oberfläche der Pleura anzufertigen.

[§ 513] Um das sonst so schwer zu sehende **respiratorische Epithel** sichtbar zu machen, empfiehlt es sich, die Lunge mit Silbernitratlösung von den Bronchien aus zu injizieren. Man verfahre dabei folgendermafsen (F. E. Schultze und Kölliker): Man spritze eine 0,05%ige Silbernitratlösung ein und lege dann die so eingespritzte Lunge in eine $^1/_2$%ige Lösung desselben Salzes. Nach einer Stunde etwa wird die Lunge

in Stücke zerschnitten und in Spiritus von etwa 80% aufbewahrt. Man kann auch die ganze Lunge in Spiritus einlegen und erst später zerschneiden. Die mit Paraffin durchtränkten Lungenstückchen werden geschnitten (das Aufkleben der Schnitte mit Eiweifs ist zu vermeiden, wegen des spätern Nachdunkeln desselben). Solche dem Lichte ausgesetzte Schnitte zeigen nach einiger Zeit Silberlinien der Alveolarepithelien sowohl, als wie der Alveolargänge. Die Kernfärbung ist zuläfsig. (Hämatoxylin oder Safranin.)

[§ 514] **Elastische Fasern** der Lungenalveolen untersucht man an frischen mit Kalilauge behandelten (siehe § 329); aber auch mit 1/3 Alkohol macerierte Lungenalveolen, die nachträglich auf dem Objektträger mit Pikrokarmin gefärbt werden können, liefern gute Bilder.

[§ 515] Die Gefäfse der Lunge lassen sich verhältnismäfsig leicht mit Karmin- oder Berlinerblauleim injizieren, aber man kann auch den Blutkreislauf bei Amphibien frisch beobachten (siehe § 320 ff).

[§ 516] Man fixiere kleine Stückchen der **Schilddrüse** in der Flemmingschen Lösung (siehe § 95) 1 bis 3 Stunden, wasche 24 Stunden in oft zu wechselndem destilliertem Wasser aus und behandle mit allmählich verstärktem Alkohol (70%, 90%, 96%). Man schneide und färbe entweder im Stück mit Heidenhainscher Hämatoxylinfärbung (siehe § 233) oder und dies mit grofsem Erfolg, mit Ehrlich-Biondischer Lösung (siehe § 262) (Langendorff).

Nach dieser Methode ist es diesem Autor gelungen, zweierlei Zellen der Alveolen zur Darstellung zu bringen: Haupt und Kolloidzellen (siehe § 317) — helle mit grünen Kernen und rote mit grünen Kernen.

[§ 517] Die Kolloid-Substanz sieht homogen aus, trübt sich mit Alkohol und Chromsäure nicht, wird durch Essigsäure nicht geronnen im Gegensatz zu Schleim und färbt sich mit vielen Farbstoffen, z. B. mit Hämatoxylin.

Kolloid quillt in Essigsäure auf (Waschen in physiologischer Kochsalzlösung bringt die Masse auf das frühere Volumen zurück) weniger in 1/5 %iger Salzsäure.

33 %ige Kalilauge oder starke Natronlauge läfst Kolloid weniger aufquellen, setzt man aber Wasser zu, so zerfällt Kolloid eher als sich Bindegewebe löst. 10 %ige Kalilauge löst nach längerer Zeit Kolloid. Salpetersäure macht Kolloid etwas schrumpfen.

[§ 518] Die Technik der **Thymus** schliefst sich eng an die der Lymphdrüsen an. Als Material sind besonders auch fötale Thymusdrüsen zu beachten.

13. Kapitel.

Niere und Harnwege.

[§ 519] Beliebig gehärtete Nieren, schon mit Alkohol, werden in einer passenden Richtung mikrotomiert oder mit der Hand geschnitten und geben sehr instruktive Bilder über die Verbreitung der **Mark-** und **Rindensubstanz.**

[§ 520] Will man die **Gefässe** der Niere specieller ansehen, so untersucht man vorher injizierte und gehärtete Nieren. Die Injektion an kleineren Tieren wird von der Aorta descendens aus vollzogen, bei gröfseren Tieren von der Arteria renalis aus. Die mit Karmin- oder Berlinerblau-Leim (siehe § 458 ff.) injizierten Nieren werden mit Spiritus gehärtet und geschnitten; nicht gefärbte Schnitte, die in Canadabalsam aufgehellt sind, zeigen nur die Gefäfsbahnen. Färbt man aber solche Schnitte, so sieht man neben den Gefäfsbahnen die nicht besonders gut konservierten Harnkanälchen.

[§ 521] Um die **Harnkanälchen** zu isolieren, gebraucht man die reine Salzsäure von 1,12 specifischem Gewicht und läfst diese 15 bis 20 Stunden auf kleine Stücke einer nicht zu sehr frischen Niere, (etwa 24 Stunden nach dem Tode), einwirken. Nach der angegebenen Frist werden die Stücke mit destilliertem Wasser gewaschen, auf dem Objektträger gezupft und in verdünntem Glycerin untersucht. (Schweigger-Seidel.) Das Glycerin mufs zu den isolierten Stücken sehr vorsichtig zugesetzt werden, damit dieselben durch Strömungen nicht verwickelt resp. gebrochen werden.

[§ 522] Mit sehr gutem Erfolge haben wir für die Isolation der Harnkanälchen kleine frische Stücke der Niere in eine starke bis auf 40 % verdünnte rauchende Salpetersäure auf 2 bis 4 Stunden eingelegt. Die Stücke werden mit destilliertem Wasser gewaschen und man kann unter Umständen mit blofsem Schütteln in einem Uhrschälchen sehr lange Abschnitte isolieren.

Ein sehr gutes Objekt für diese Methode scheint die Niere der Schildkröte, aber auch die der Maus zu sein, denn wir haben vor Jahren ohne Schwierigkeit in zahlreichen Fällen im Zusammenhange Ampulle, gewundenes Stück, Henlesche Schleife, Schaltstück, Sammelröhre bis zum Konfluieren mit der nächsten Sammelröhre gesehen. Sind die Präparate gut ausgewaschen, so empfiehlt sich das Nachfärben mit saurem Fuchsin, von welchem man einige Tropfen dem Wasser zusetzt, in welchem die macerierten Stücke gewaschen werden. Untersucht und eingeschlossen werden die gezupften

Präparate in schwachem Glycerin, welches vorsichtig an Stelle des Wassers substituiert wird.

[§ 523] Eine Methode, die rasch zum Ziele führt, aber keine so guten Resultate wie die beiden obigen liefert, ist die Anwendung der koncentrierten Kalilauge. Kleinere Stücke einer frischen Niere werden auf 1 bis 1½ Stunden in koncentrierte Kalilauge gelegt. Die so behandelten Stücke werden in dieser Flüssigkeit zerzupft und untersucht; man hüte sich, Wasser hinzuzusetzen.

In analoger Weise wie in der Leber die Gallenkapillaren, so kann man in der Niere mit Indigokarmin die Harnkanälchen auf Schnitten zur Anschauung bringen. (Chrzonszczewsky siehe § 498.)

[§ 524] Will man Näheres über die **Epithelien** der Harnkanälchen erfahren, so fixiere man ganz kleine Stücke der Niere in Sublimat oder Flemmingscher Flüssigkeit. Die Schnitte führe man so, dafs man entweder die Kanälchen längs im Schnitte, oder aber bestimmte Abschnitte senkrecht trifft.

Sehr günstig für die Untersuchung des Epithels der Baumannschen Kapsel und dessen Übergang in das gewundene Kanälchen ist nach Benda die Mäuseniere.

[§ 525] Um Epithelien isoliert zu bekommen, empfiehlt sich die Macerierung kleiner Stücke in Ranvierschem Alkohol (siehe § 270) oder nach Heidenhain in 5%iger Lösung von neutralem chromsaurem Ammoniak, in welchem besonders klar die Stäbchenstrukturen bestimmter Abschnitte der Harnkanälchen zum Vorschein kommen.

[§ 526] Am **Ureter** und der **Harnblase** würde man namentlich auf das Studium des Epithels einige Zeit verwenden, indem man die erwähnten Organe im kolabierten und dann im gedehnten Zustande untersucht. Letzterer wird dadurch hervorgerufen, dafs man den Ureter, resp. die Harnblase prall mit derselben Flüssigkeit injiziert, in welcher man sie (nach Unterbindung) zu fixieren beabsichtigt. In letzterem Falle erscheint das Epithel aufserordentlich niedrig, in einer bestimmten Weise gedehnt, aber kontinuierlich. (Eine ähnliche Dehnung kann man in allen epithelialen Röhren beobachten.)

14. Kapitel.

Geschlechtsorgane und Notizen über embryologische Technik.

[§ 527] Für das Studium der **Ovarien** wähle man, je nachdem man reifere oder sich entwickelnde Follikel und

Eier untersuchen will, das Material. Dabei diene leitend die Berücksichtigung der Brunstzeit, Eierlegen u. s. w.

[§ 528] In der Pause hat man wenig Chancen, reife oder reifende Eier anzutreffen. Will man die Entwicklung der Follikel und Eier studieren, so wähle man sich ein embryonales Material, dessen Alter in einem bestimmten Falle jedesmal durch Bücher etc. festzustellen ist.

[§ 529] Die unreifen Eier der niederen Wirbeltiere, Fische, Frösche, auch Reptilien und Vögel kann man dazu benutzen, um sich daraus frische Präparate anzufertigen. Man braucht nur die unreifen, ganz hellen (gewöhnlich dorsal liegenden) Partien des Eierstockes aufzusuchen, auf einem Objektträger in einer indifferenten Flüssigkeit auszubreiten und mit schwacher Vergröfserung zu untersuchen.

[§ 530] Will man bei stärkerer Vergröfserung untersuchen, so mufs man die Eier mit Vorsicht isolieren, mit einem Deckglase bedecken, dasselbe mit Schutzleisten oder Wachsfüfschen versehen und beobachten.

Aber es gelingt auch ohne Schwierigkeiten, die viel kleineren Eier der S ä u g e t i e r e zu isolieren. Man führe zu diesem Zwecke mit einem scharfen Rasiermesser einen Durchschnitt durch ein frisches Ovarium. Die Oberfläche wird mit wenig indifferenter Flüssigkeit benetzt und mit einem Skalpell oder mit der Rasiermesserklinge selbst geschabt. Es werden infolge des sanften Druckes zahlreiche unreife Follikel die Eier in die indifferente Flüssigkeit entleeren, und wenn man diese auf einen Objektträger überführt und mit einer schwachen Vergröfserung untersucht, so findet man das Gewünschte in zahlreichen Exemplaren.

Einzelne davon werden ins Auge gefafst, die übrigen samt der Flüssigkeit auf einen andern Objektträger übertragen, um weiter untersucht zu werden, oder die Flüssigkeit samt diesen entfernt. Es wird ein Deckgläschen mit Vorsicht (eventuell mit Schutzleistchen) darauf gelegt, und es ist nun möglich, mit einer stärkeren Vergröfserung zu untersuchen.

[§ 531] Die Fixierung der so isolierten Eier auf dem Objektträger, z. B. mit Osmiumsäure durch Räuchern oder durch Zufliefsen derselben unter das Deckgläschen, ist möglich, man mufs aber bei der Überführung der so fixierten Eier in Glycerin oder Alkohol a u f s e r o r d e n t l i c h vorsichtig sein, indem man mit den schwächsten Koncentrationen derselben anfängt und ganz allmählich die Koncentration steigert, um schliefslich zu der gewünschten zu gelangen.

[§ 532] Die **reifen Eier**, welche bei unseren einheimischen Fischen, Amphibien und Reptilien verhältnismäfsig voluminös

und im grofsen und ganzen undurchsichtig sind, kann man nicht ohne weiteres bei durchfallendem Lichte untersuchen; wohl sieht man manches bei auffallendem, wobei entweder Lupe oder die schwächsten Objektive des zusammengesetzten Mikroskops in Betracht kommen.

[§ 533] Weit günstiger in dieser Beziehung sind die reifen Eier der Säuger. Ovarien der erwachsenen Tiere unmittelbar vor oder während der Brunstzeit liefern solches Material.

Die gröfsten reifen Follikel, die sich sehr gespannt anfühlen, werden mit einer scharfen Nadel angestochen und die dabei in einem Strahl austretende Flüssigkeit, in der gewöhnlich das Ei mit der Zona radiata enthalten ist, in ein Uhrschälchen gesammelt. Der Inhalt wird mit Vorsicht unter einer Lupe untersucht und das Ei mit der Zona radiata meist gefunden; es wird vorsichtig mit einem dünnen Spatel auf einen Objektträger übertragen, ein Deckglas mit Schutzleistchen (diese sind hier unbedingt nötig) aufgelegt und untersucht.

[§ 534] Wendet man keine Schutzleistchen an, so drückt das Deckgläschen auf das immerhin ziemlich voluminöse Gebilde, und es zeigt alsbald die Zona pellucida einen in der Sehebene liegenden strichförmigen Rifs, der sich allmählich unter steigendem Drucke vergröfsert, was durch die Druckrichtung bedingt ist. Die Rifsflächen der Zona verlaufen stets in grofsen Kreisen.

[§ 535] Auch solche Eier können wie die unreifen unter dem Deckglase fixiert werden; aber hier erfordert es noch mehr Geduld und Übung, um einigermafsen brauchbare Präparate zu erzielen.

[§ 536] Um Übersichtsbilder durch Eierstöcke zu erlangen, führen die im allgemeinen Teile angegebenen Methoden mehr oder weniger zum Ziele. Vor allem die Flemmingsche Lösung, welche neben anderen Vorzügen den hat, dafs sie die komplizierten Strukturen des Eiprotoplasmas, sowie auch die Zona pellucida vorzüglich erhält. Safranin als Farbe ist hier wohl geeignet.

Sublimat und Chromsäure geben z. B. ebenfalls instruktive Bilder; man färbt am besten mit Karmin oder Hämatoxylin nach. Bei diesem letzteren liefert die Kombination mit Eosin demonstrative Bilder.

[§ 537] Man wählt am zweckmäfsigsten für Studienzwecke Eierstöcke kleiner Tiere wie Mäuse, Fledermäuse, Ratten etc., da dieselben sich viel besser fixieren lassen und leichter zu haben sind. Grofse Ovarien, Kuh, Mensch lassen sich nicht gleichmäfsig in oben angeführter Flüssigkeit fixieren. Will man

aber auch hier Studien machen, so fixiere man entweder kleinere Stücke wie oben oder greife zu chromsauren Salzen. (Siehe § 84).

[§ 538] Das **Keimepithel,** das auf dem Schnitt gut sichtbar ist, kann auch von der Fläche durch Versilberung dargestellt werden (siehe § 277). Das Ovarium wird mit Alkohol nachgehärtet, und ein dünner tangentialer Schnitt zeigt die Silberlinie des Keimepithels.

Ganz kleine Ovarien junger Mäuse, Fledermäuse etc. lassen sich nach der Versilberung im ganzen einschliefsen und die Silberlinien des Keimepithels bei passender Einstellung des Eierstockes beobachten.

[§ 539] **Tuben** werden wie Darm behandelt. Da aber die Tube sehr stark und vielfach gewunden ist, so ist es, falls es auf genaue Querschnitte ankommt, notwendig, die Tube vor dem Härten zu strecken, indem man zuvor die peritoneale Duplikatur möglichst nahe der Anheftungsstelle der Tube mit einer krummen Schere entfernt, welche Operation bei kleinen Tuben, z. B. von Fledermäusen, einer gewissen Übung bedarf.

[§ 540] Auch eine Injektion der Tube mit der Fixierungsflüssigkeit und das Übertragen derselben in diese ist anzuraten. Man sieht dabei, dafs sehr viele Falten sich ausgleichen.

[§ 541] Der **Uterus** wird ebenfalls nach der Methode, die im Abschnitt Darm angegeben worden ist, behandelt. Schlauchförmige Uteri bestimmter Tiere, namentlich junger, ganz kleiner Tiere, Mäuse etc., dann Katzen, Hunde, Schafe lassen sich mit der Fixierungsflüssigkeit, bevor sie in dieselbe eingelegt werden, ebenfalls einspritzen, wobei die Tube, wenn erwünscht ist, mitbehandelt werden kann.

Die Weiterbehandlung ist die gewöhnliche.

Die Scheide behandle man wie Oesophagus oder Haut.

[§ 542] Das Flimmerepithel der Tube und des Uterus kann nach dem Aufschneiden der Organe abgeschabt, resp. kleinere Fetzen davon entnommen und frisch untersucht werden (s. § 268).

[§ 543] Es bietet sich bei uns Gelegenheit, **Embryonen resp. abgelegte befruchtete Eier** mit Leichtigkeit zu erlangen, daher lassen wir einige diesbezügliche Notizen und Erfahrungen hierüber folgen.

[§ 544] Im Frühjahr und im Sommer hat man Gelegenheit, zahlreiche Laichportionen und Cocons verschiedener **wirbelloser** Tiere, namentlich Schnecken in den stehenden Gewässern, Bächen, die nicht rasch fliefsen u. s. w. zu sammeln, was, wenn die Eier nicht zu weit entwickelt sind, allgemein interessantes Beobachtungsmaterial abgibt. Man kann beispielsweise das

Austreten der Richtungskörperchen an der Tellerschnecke und weiter die Furchung frisch am lebenden Ei beobachten.

[§ 545] **Fischeier** sind gelegentlich das ganze Jahr hindurch zu bekommen. Bei den meisten kann man frisch an der Oberfläche den Keim bei günstiger Beleuchtung sehen und studieren.

[§ 546] Die leichteste Methode, um sich Übersichtsbilder über die Keime und Embryonen zu verschaffen, ist das Fixieren der frischen Eier in einer $^1/_3$ $^0/_0$igen Chromsäure 12—24 Stunden. Man übertrage alsdann die Eier in fliefsendes Wasser, nach einigen Stunden hebt sich die Eischale etwas ab, was allerdings eine geringe Kompression des Eies bedingt. Ist die Eihaut abgehoben, so kann man das Ei, welches die Keimscheibe enthält, indem man das Ei mit der linken Hand festhält, mit einem scharfen Rasiermesser abschneiden. Die so abgetragenen Segmente werden noch weiter mit Wasser gewaschen, bis die gelbe Farbe die Embryonen resp. die Keime vollständig verläfst. (Der Dotter bleibt immer etwas gefärbt.)

[§ 547] Besser erhaltend und auch für die allerjüngsten Stadien brauchbar ist die Pikrin-Salpetersäure nach Paul Mayer (siehe § 101). Die Eier, welche Furchungsstadien, resp. junge Keime enthalten, werden auf 1 $^1/_2$—2 Stunden in dieser Flüssigkeit fixiert und auf ebenso lange Zeit in 70 $^0/_0$igen Spiritus übertragen. Es werden dann die die Keime resp. Embryonen enthaltenden Segmente mit einem Rasiermesser hart unter dem Keim abgeschnitten; die Eihaut läfst sich gewöhnlich durch Schütteln in 70 $^0/_0$igen Spiritus eventuell durch Nachhelfen mit Nadeln leicht entfernen. Die so gewonnenen Eisegmente werden vorsichtig in frischen 70 $^0/_0$igen Spiritus übertragen, der so lange gewechselt wird, bis die gelbe Farbe, namentlich der Embryonen und Keime vollständig verschwindet.

[§ 548] Noch bessere Resultate erzielt man (wir haben Forelleneier im Auge) mit S u b l i m a t - E i s e s s i g. 80 ccm wässerige Sublimatlösung und 20 ccm Eisessig läfst man $^1/_2$—$^3/_4$ Stunden lang einwirken. Die so fixierten Eier werden in 70 $^0/_0$igen Spiritus übertragen und nach 1 Stunde, wie bei der vorigen Behandlung angegeben worden ist, die Keime mit dem Rasiermesser abgeschnitten. Die weitere Behandlung wie bei Sublimat (siehe § 97), nur darf man zum Aufbewahren keinen stärkeren Alkohol wie 85 $^0/_0$igen anwenden.

[§ 549] Es mufs als allgemeine Regel gelten, dafs das gesamte Fischmaterial möglichst rasch bearbeitet werde; denn werden die Eier längere Zeit in Spiritus aufgehoben, wenn derselbe auch schwach gewählt wird, so wird die Dottersubstanz doch so hart und brüchig, dafs man sie gar nicht mehr, wenigstens mit gewöhnlicher Paraffineinbettung, schneiden kann. Mit reiner Celloidineinbettung kann man keine für embryologische Zwecke genügend feine Schnitte erzielen. Die kombinierte Celloidin-Paraffinmethode von Apathy führt hier manchmal noch zum Ziele. Liegen aber solche Segmente ein paar Jahre im

Spiritus, so lassen sich zwar die Keime und Embryonen bei groſser Übung mit Staarnadeln und Skalpellspitzen absprengen und weiterschneiden, aber der Dotter nicht mehr.

[§ 550] Man kann sehr leicht bei den Fischen eine sogenannte künstliche Befruchtung der Eier vornehmen. Zur Zeit, wo die Geschlechtsprodukte reif sind, was man daraus erkennt, daſs beim leichten Streichen der Bauchseite die Geschlechtsprodukte Eier resp Sperma (Milch) ohne weiteres abgegeben werden, verfahre man folgendermaſsen. In eine reine Schüssel werden die Eier eines Rogners durch mehrfaches sanftes Massieren vom Kopf bis zur Analöffnung zum Austritt gebracht. Man darf dieses Verfahren nur so lange fortsetzen, bis eine Spur Blut aus der Analöffnung herauskommt Es wird darauf Milch in derselben Weise gewonnen und auf die Eier möglichst gleichmäſsig verteilt, dann das Ganze umgerührt etwa mit der Fahne einer Gänsefeder.. Nach 5 Minuten wird reines Wasser, d. h. ein solches, in welchem die Tiere in freiem Zustande laichen und auch womöglich von derselben Temperatur (eher um ein paar Grad niederer) zugesetzt, und zwar so viel, daſs die Eier reichlich mit Wasser bedeckt werden. Es wird wiederum einige Minuten gewartet (bis 10 Minuten), das mit Milch getrübte, weiſslich aussehende Wasser abgegossen und durch frisches ersetzt, bis die Trübung nicht mehr makroskopisch wahrzunehmen ist. Die Besamung ist vollzogen und man kann die Eier in frischem flieſsendem Wasser zur Weiterentwickelung bringen.

Für diesen letzteren angedeuteten Zweck gibt es ganz specielle Apparate, die namentlich in den sogenannten Brutanstalten verwertet werden, die man aber, falls man über flieſsendes Wasser verfügt, leicht und billig durch einfachere ersetzen kann.

[§ 551] **Amphibien.** Ende März bis Mitte April findet man in Teichen, Pfützen und Bächen Frosch- und Krötenlaich. Die Frösche laichen in Klumpen, die Kröten in Schnüren. Solche Eier kann man schon frisch der Untersuchung unterwerfen und bei auffallendem Licht beispielsweise die Furchung studieren.

[§ 552] Um sich Material zu sammeln, welches für Beobachtungen mit der Lupe namentlich geeignet ist, aber auch das spätere Zerlegen in Schnitte zuläſst, verfahre man so, daſs man kleinere Eiportionen, Eier samt Schleimhülle in eine $^1/_3$%ige Chromsäure (viel Flüssigkeit) einlegt. Nach 24 Stunden wasche man im flieſsenden Wasser ebenso lange, die Schleimhüllen werden dabei sehr locker und lassen sich mit Leichtigkeit mit Pincetten anfassen und entfernen.

[§ 553] Oft kann man auf diese Weise eine groſse Menge Eier, die dann bloſs mit der Eihaut überzogen sind, erlangen. Die Eihaut liegt dem Ei nicht dicht an, sondern es ist zwischen dem Ei und der Eihaut ein hier mit Wasser gefüllter Raum vorhanden. Die Eihaut ist sehr gespannt. Sticht man diese, am besten mit einer glühenden Nadel an, so kollabiert sie sofort und wirft kleine Falten; solche Fältchen können leicht mit Pincetten angefaſst, zerrissen und entfernt werden.

So geschälte Eier müfsen weiter mit grofser Vorsicht behandelt werden und man kann sie zweckmäfsig successive in 50-, 60-, 70-, 80%igen Spiritus übertragen.

Solche Eier geben prägnante Bilder für auffallendes Licht, eignen sich aber weniger gut für Durchschnitte.

[§ 554] Eine zweite Methode ist folgende:

Man behandle die Eier mit einem auf 50—60° C. gewärmten Wasser etwa 1/2 Minute. Dann kühle man die Eier rasch ab, indem man zu dem warmen Wasser kaltes hinzugiefst, und schält nun die Eier also: Man fafst die Schleimhülle mit einer Pincette und schneidet mit einer sehr scharfen Schere dicht am Ei vorbei; es gelingt oft, schon nach dem ersten oder zweiten Schnitt bei einer gewissen Übung den Eiraum zu eröffnen, und es fällt dann ohne weiteres das Ei aus. Das so auspräparierte Ei wird nun successive mit Spiritus von ganz allmählich ansteigender Konzentration weiter behandelt.

[§ 555] Um die Schleimhülle zu entfernen, verfährt Whitmann folgendermafsen.

Eine 10%oige Lösung des Natriumhypochlorid wird mit 5 bis 6 Teilen Wasser vermengt. Die durch Hitze oder anders abgetöteten Eier kommen in diese Lösung so lange, bis sie aus der Hülle herausfallen.

[§ 556] Die mit Chrom-Osmium-Essigsäure beispielsweise fixierten Eier können auch, nachdem sie gut mit Wasser ausgewaschen worden sind, in eine aufs 3—4fache verdünnte Lösung von Eau de Javelle kommen. In dieser verbleiben sie 1/4—1/2 Stunde, während welcher Zeit das Gefäfs einigemal geschüttelt wird; die von der Gallertschicht befreiten Eier senken sich zu Boden, werden vorsichtig mit Wasser gewaschen und allmählich in stärkeren Spiritus übergeführt. (Blochmann.)

Auch Eier von Tritonen, die einzeln an Grashalmen etc. abgelegt werden, lassen sich mit gutem Erfolg in derselben Weise behandeln.

[§ 557] **Reptilien.** Im Mai, Juni und später trifft man trächtige Eidechsen (resp. Schlangen) an. Die Tiere legen die Eier in ziemlich frühem Stadium ab und man trifft bei der Mauereidechse beispielsweise sehr oft frühe Stadien an.

[§ 558] Man erzielt die besten Resultate, wenn man frisch unter physiologischer Kochsalzlösung die Schalenhaut entfernt, was man nicht allzuschwer erreicht, wenn man mit einer spitzen Pincette das Ei so fafst, dafs sich eine niedrige Falte bildet. Diese wird nun mit einem möglichst langen Schnitt entfernt. Ist die Öffnung eine sehr kleine geworden, so kommt es zur Bildung eines Extraovats, welches gewöhnlich mit dem Platzen der Dotterhaut, resp. Ausfliefsen des Dotters (das Ei geht dabei zu Grunde) endet.

[§ 559] Ist ein solches Ei von den Eihäuten befreit, so wird es mit einem passenden Hornlöffel in die Fixierungsflüssigkeit übertragen und als solche eignet sich am bequemsten eine 1/3%oige Chromsäurelösung 24 Stunden, Pikrin-Schwefelsäure

5 Stunden oder Sublimat-Eisessig (siehe § 100 und § 548) 1—1½ Stunden. Nach dieser Frist werden die betreffenden Eier in destilliertes Wasser übertragen und die Area embryonalis resp. vasculosa, wenn man keine speciellen Zwecke im Auge hat, mit einer scharfen spitzen Schere umschnitten.

[§ **560**] In späteren Stadien der Entwicklung, nachdem sich die Keimblätter bereits differenziert haben, läfst sich der Keim allein nach Abhebung der Dotterhaut, welche bei den Reptilien keine Schwierigkeit zu machen pflegt, entfernen.

[§ **561**] Bei den jüngeren Stadien entferne man den Keim mit einer darunter liegenden Dotterschicht und behandle das Ganze weiter. Nach der Chromsäure wäscht man die Keime längere Zeit bis 24 Stunden mit oft zu wechselndem Wasser aus, nach Pikrinsäure und Sublimat wende man in gewöhnlicher Weise Spiritus an.

[§ **562**] Eine recht (für den Anfänger namentlich) bequeme Methode, die übrigens keine schlechten Resultate gibt, ist die folgende:

Man übertrage die Eier mit Schalen in Pikrin-Schwefelsäure auf 5—6 Stunden oder in die Boverische Lösung (koncentrierte wässerige Pikrinsäure wird mit 2 Teilen Wasser verdünnt und dieser Lösung 1% Eisessig zugesetzt [auf das ganze Volumen berechnet]) auf 24 Stunden.

Hierauf überträgt man die Eier in destilliertes Wasser und entfernt darin die Schalenhaut mit Pincette und Schere, was mit grofser Leichtigkeit geschieht. Die weitere Behandlung nach der Entfernung der Eihaut und Herausschneiden des Embryo resp. Keims, ist wie die oben angegebene.

[§ **563**] Man findet gelegentlich zu Haufen abgelegte Eidechsen-, und namentlich Schlangeneier, diese letzteren enthalten stets spätere Entwicklungsstadien, Embryonen, die korkzieherförmig gewunden sind, an denen man Pulsation des Herzens u. s. w. wahrnimmt.

Die Eier sind gewöhnlich kollabiert, wenn sie etwas eingetrocknet sind, die Embryonen darin brauchen aber nicht tot zu sein. Im feuchten Moos oder Ähnlichem nehmen die Eischalen die ursprüngliche Spannung an und es läfst sich mit Pincette und Schere unter Kochsalz die Schale entfernen. Solche Embryonen sind bedeutend resistenter geworden, man kann sie durch passendes Umschneiden schon im Kochsalz isolieren und wie oben angegeben weiter behandeln.

[§ **564**) Das bequemste Material für Untersuchung von **Vogeleiern** sind die Hühnereier. Die Furchung des Hühnereies geht parallel mit der Bildung des Eiweifses und der Schalenhäute (resp. Schalen) im unteren Abschnitt der Tube und im sog. Uterus u. s. w. vor sich. Das Ei wird abgelegt im Stadium des durchfurchten Keims, wenn sich eben die Keimblätter anfangen zu bilden. Die weitere normale Entwicklung geht aufser dem Mutterleibe bei Luftzutritt bei einer höheren (37—40° C.) Temperatur (Bruttemperatur) vor sich. Das Brüten kann entweder der Henne

überlassen werden oder in einem gewärmten Raume vor sich gehen. Ein beliebiger Thermostat (siehe § 120), auf die geforderte Temperatur geheizt, kann diesem speciellen Zwecke dienen, in einen Brutofen umgewandelt werden. Man kann also in bequemer Weise alle möglichen Entwicklungsstadien erlangen.

[§ 565] Am leichtesten sind die Keimscheiben des dritten Brütetages zu präparieren. Zunächst wird die Eischale am stumpfen Pol, wo sich der Luftraum befindet, aufgeschlagen, die Schalenhaut mit einer Pincette eröffnet und das Eiweifs zum Ausfliefsen gebracht, während man mit einer starken Schere die Schale entfernt. Hat man die Schale so weit umschnitten, bis man dicht an der Dotterhaut angelangt ist, wobei das meiste Eiweifs bereits entfernt wurde, so giefse man den Dotter sehr vorsichtig entweder in eine indifferente Flüssigkeit, z. B. eine auf die Bruttemperatur erwärmte ½ %ige Kochsalzlösung oder direkt in die fixierende Flüssigkeit. Ist das erstere der Fall, so ziehe man vorsichtig mit Pincette die Reste des Eiweifses in der Region der Keimscheibe weg, man beobachte frisch, was zu sehen ist, Pulsation des Herzens etc., und umschneide mit einer scharfen Schere den Keim um den Sinus terminalis. Die Dotterhaut, falls sie nicht bereits abgegangen ist, wird entfernt und der Keim auf einer Spatel oder einem Uhrschälchen aufgefangen, die Kochsalzlösung möglichst abgegossen und die Fixierungsflüssigkeit tropfenweise auf den Embryo selbst geschüttet.

[§ 566] Als Fixierungsflüssigkeit kann man bei Vogel-Embryonen mit Erfolg Chromsäure, Salpetersäure, Pikrinschwefelsäure u. s. w. anwenden. Man kann aber auch folgendermafsen verfahren: Der Dotter, mit möglichst wenig Eiweifs wird in die Fixierungsflüssigkeit übertragen. In dieser koagulieren die Reste des Eiweifses allmählich und werden mit Pincette, resp. Pinsel entfernt, bis die glatte glänzende Dotterhaut in der Region des Embryos vollkommen blofsliegt. Das Ei wird in dieser Fixierungsflüssigkeit, je nach derselben längere oder kürzere Zeit belassen, z. B. in Chromsäure 24 Stunden, in einer 3 bis 5 %igen Salpetersäure 2—3 Stunden, Pikrinschwefelsäure 3—4 Stunden. Nach dieser Zeit werden die Keime ganz oder in älteren Stadien um den Sinus terminalis umschnitten, die Dotterhaut durch Schütteln des Keims in einer Uhrschale, resp. durch sanftes Ziehen mit einer Pincette entfernt; die Objekte aus der Chromsäure werden mit Wasser gewaschen und die aus der Salpeter- und Pikrinschwefelsäure in 70 %igen Spiritus nach den bekannten Regeln übertragen.

[§ 567] Die Keime können gefärbt und geschnitten, resp. geschnitten, angeklebt und gefärbt werden.

[§ 568] Solche Keime, die man vorher gefärbt hat, kann man aber auch als Übersichtspräparate ganz einschliefsen, indem man die gefärbten Keimscheiben vorher entwässert und aufhellt. Man unterlasse nie, der Dicke des Keims entsprechend dicke Schutzleisten anzuwenden; ohne diese Vorsicht werden die Keimscheiben stark platt gedrückt und die Organe verschoben.

[§ 569] Ganz instruktive Bilder erhält man, wenn man zu der Salpetersäure von der eben angegebenen Koncentration 6—10 Tropfen Silbernitrat auf 100 ccm hinzusetzt. Es erscheinen dabei sehr reine Silbergrenzen.

Die angegebenen Verfahren werden bei gröfseren Embryonen etwas modifiziert werden müssen, und ebenso bei ganz jungen Stadien.

[§ 570] Bei diesen letzteren ist die Anwendung des Sublimats nicht zu umgehen. Möglichst vom Eiweifs befreite Dotter kommen in eine koncentrierte Sublimatlösung auf circa zwei Stunden, die Keimscheibe wird rasch mit dem darunter liegenden Dotter umschnitten und mit einem Löffel abgehoben. Die weitere Behandlung siehe Sublimat. Das Stückfärben mit Boraxkarmin ist in diesem letzteren Falle sehr zu empfehlen.

[§ 571] Sonstige Vogeleier sind bei uns leicht zu beschaffen, z. B. von Tauben, Sperlingen etc. Manche Vogeleier sind in Folge der besonderen Zähigkeit des Eiweifses sehr schwer zu behandeln, z. B. Kiebitzeier, eine Eigenschaft, die sie mit Schildkröteneiern teilen.

[§ 572] **Säugetiere.** Die Embryonen, die man zum systematischen Studium am leichtesten bekommt, sind die des Kaninchens und des Meerschweinchens. Am meisten Übung und Sorgfalt in der Härtung erfordern die freiliegenden Eier. Die trächtigen Uteri werden unter einer indifferenten oder fixierenden Flüssigkeit sorgfältig aufgeschnitten, mit Nadeln (man nehme eine mit Wachs ausgegossene Schale) aufgesteckt und die Oberfläche des Epithels, falls die zu erwartenden Stadien jung, resp. die Eier klein sind, wird auf das sorgfältigste mit einer Lupe untersucht. Sind die Eier so aufgefunden worden, so kann man die indifferente Flüssigkeit mit einer Pipette aufsaugen und mit einer fixierenden vertauschen, oder aber die Eichen selbst können mit kleinen Löffelchen aufgefangen und in die fixierende Flüssigkeit übertragen werden.

[§ 573] Als Fixierungsflüssigkeit benutze man die Pikrin-Schwefelsäure bei jungen Stadien, Primitivstreifen, einige Urwirbel 1—2 Stunden, worauf die Eier, wie andere Objekte weiter behandelt werden. Da die Keimblase aber gewöhnlich schrumpft, so empfiehlt es sich, den Embryonalschild mit einer scharfen, spitzen Schere vorher zu umschneiden.

[§ 574] Auch schwache Osmiumsäure, etwa 1/3 %ige oder Osmiumsäure - Gemische (siehe § 95) führen hier zum Ziel. Spätere Stadien, wenn der Embryo deutlich mit unbewaffnetem Auge sichtbar ist, die Kenntnis der anatomischen Verhältnisse der Lage und der Eihäute des Embryo vorausgesetzt, sind leichter zu behandeln; man gewöhne sich nur, stets unter einer indifferenten oder fixierenden Flüssigkeit zu präparieren.

[§ 575] Kleinere Uteri trächtiger Tiere, Mäuse, Fledermäuse etc. können samt dem Uterus am besten mit Pikrin-Schwefelsäure, aber auch Sublimat nach den bekannten Regeln fixiert werden. Die den Embryonen entsprechenden Anschwellungen

des Uterus werden in toto durchtränkt und in Schnitte zerlegt, am besten senkrecht auf die Längsachse des Uterus.

Da die Muscularis des Uterus sehr hart ist, so kann sie unmittelbar vor dem Schneiden in Paraffin mit einem scharfen Skalpell oder Rasiermesser entfernt werden.

[§ 576] Die Tube der Mäuse und namentlich der Fledermäuse ist sehr durchsichtig und wenn man ein frisches corpus luteum bemerkt und am Uterus nichts Verdächtiges findet, so unterlasse man nicht, die Tubenfältchen auf die oben angegebene Weise (siehe § 539) auszugleichen und in einer indifferenten Flüssigkeit mit einer mittleren Vergröfserung (etwa 70mal) sich genau anzusehen. Hat man das Glück gehabt, ein sehr junges Ei, etwa im Furchungsstadium anzutreffen, so trachte man, dasselbe aus der Tube herauszubekommen, und zwar in der Weise, dafs man die Tube in Stücke zerschneidet. Schon die Kontraktion der Muskulatur pressen solche unverletzt heraus; oder man hilft sich damit, dafs man solche Stückchen von einem Ende zum andern streicht, wobei die Eier ebenfalls frei werden. Solche Eier kann man, was nicht leicht ist, nach derselben Methode wie reife Follikeleier behandeln und dauernd einschliefsen.

[§ 577] Sehr leicht ist das Behandeln der Meerschweincheneier, und zwar vom 6.—15. Tage und darüber. Spannt man die Anschwellung mit Nadeln, schneidet die Muscularis an der dem Mesometrium entgegengesetzten Seite longitudinal an und durchtrennt alsdann vorsichtig die weiche Decidualschicht unter der fixierenden Flüssigkeit ebenfalls mit einem longitudinal verlaufenden Schnitt, so tritt der Zapfen mit dem Embryo unverletzt hervor und kann ohne weiteres fixiert werden.

Jüngere Anschwellungen können samt den Eiern, wie oben die der Mäuse mit Pikrinschwefelsäure behandelt werden.

Ohne besondere Schwierigkeiten kann man spätere Stadien der Schafe aus den Schlachthäusern sich verschaffen, aber möglichst unmittelbar nach dem Schlachten, denn schon nach wenigen Stunden verändern sie sich sehr stark, ja, jüngere Stadien zerfallen, resp. werden unbrauchbar.

[§ 578] Um freie kleine Eier, die im frischen Zustande sehr wenig resistent und vollkommen wasserklar sind, leichter aufzufinden, kann man in den Uterus vor dem Eröffnen z. B. eine 3%ige Lösung von doppeltchromsaurem Kalium injizieren und erst, nachdem die Eier fixiert und undurchsichtig geworden sind, den Uterus unter derselben Flüssigkeit vorsichtig aufschneiden, aufstecken, die Eier aufsuchen und weiter behandeln.

[§ 579] Wie schon für Fische angegeben wurde, ist es von der gröfsten Wichtigkeit, falls man nicht die geeignete Zeit dazu hat, Eier, Keimscheiben und Embryonen auch der übrigen Klassen sofort zu untersuchen, diese möglichst bald zu färben und geeignet orientiert mit Paraffin zu durchtränken; thut man es nicht, so läuft man Gefahr, dafs die Objekte brüchig bis zur Unbrauchbarkeit werden und noch dazu sich nicht färben lassen.

[§ 580] Die **Spermatozoen** und deren Bewegungen kann man mit Leichtigkeit frisch untersuchen. Eine aus den Samenwegen oder einem frisch gemachten Schnitt durch einen Nebenhoden entnommene geringe Menge Samenflüssigkeit wird mit einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung versetzt und direkt eventuell auf dem heizbaren Objekttisch beobachtet.

Spermatozoen von Salamandra atra und maculosa lassen mit Leichtigkeit schon bei mittlerer Vergröfserung alle bis jetzt beschriebenen Bestandteile (Spiefs, Kopf, Mittelstück, Schwanz, undulierende Membran, Randfaden etc.) erkennen. Man vergesse nicht, Wasser zuzusetzen; dieses sistiert bald die Bewegungen. Schwache Säuren und Alkalien wirken ähnlich wie bei der Flimmerbewegung.

[§ 581] Bei der Untersuchung der **Hoden** wähle man, wenn man die Spermatogenese studieren will, geschlechtsreife, brünstige Tiere.

[§ 582] Orientierungspräparate beschafft man sich dadurch, dafs man kleinere Hoden oder kleine Stücke gröfserer in gewöhnlicher Weise etwa mit Sublimat oder Pikrin-Schwefelsäure fixiert. Für die feineren histogenetischen Vorgänge ist die Flemmingsche Lösung in angegebener Weise anzuwenden; nachträgliche Färbung auf dem Objektträger mit Safranin.

[§ 583] Mit sehr gutem Erfolge wendet man die von Hermann empfohlene Flüssigkeit:

Für Säugetiere	1%iges	Platinchlorid	15 g
	2%ige	Osmiumsäure	4 g
		Eisessig	1 g,
für Salamander	1%iges	Platinchlorid	15 g
	2%ige	Osmiumsäure	2 g
		Eisessig	1 g an.

Man lasse die Flüssigkeit auf nicht zu grofse Stücke 24 Stunden lang einwirken, wasche mit destilliertem Wasser aus und entwässere mit Alkohol von allmählich steigender Koncentration 50, 70, 90%.

[§ 584] In Paraffin eingebettete und auf dem Objektträger fixierte Schnitte können entweder mit Safranin allein nach der Formel

1 g Safranin,
10 ccm abs. Alkohol,
90 ccm Anilinwasser,

24 bis 48 Stunden lang gefärbt und dann mit Wasser, saurem Alkohol und Alkohol absol. (siehe § 240) behandelt oder

nach einer solchen Färbung nach der Gramschen Methode nachgefärbt werden, d. h. auf 3 bis 5 Minuten in Gentianaviolettlösung gefärbt, in Alkohol flüchtig abgespült und mit Jod-Jodkaliumlösung (Jod 1, Jodkalium 2, Wasser 300) 1 bis 3 Stunden behandelt werden, bis die Schnitte vollkommen schwarz werden; nun werden sie in Alkohol übertragen, bis die Schnitte violett mit einem Stich ins Bräunliche werden. Die Chromatinnetze der ruhenden Kerne, sowie auch im Spirem- und Dyspiremstadium erscheinen blau-violett, die echten Nukleolen rot tingiert. Im Aster-Dyasterstadium dagegen färbt sich das Chromatin rot u. s. w.

Die Protoplasmastrukturen sind ebenfalls sehr deutlich sichtbar und gelbbraun tingiert. Die Köpfe, die Mittelstücke, Schwänze, Spiralfäden etc. erscheinen deutlich und in verschiedenen Farben rotblau, violettblau etc.

[§ 585] Um Spermatozoen aufzubewahren, kann man sich Trockenpräparate wie bei Blut (siehe § 304) anfertigen und die so angeklebten Spermatozoen färben, z. B. mit Safranin u. s. w. Frisches Sperma läfst sich auch mit Osmiumsäure räuchern (siehe § 90).

Fertige Spermatozoen sind sehr resistent gegenüber verschiedenen Reagentien und lassen sich deshalb leicht konservieren.

[§ 586] Für das Studium der Spermatogenese empfiehlt Benda folgendes Verfahren: In Flemmingscher Lösung konservierte Hodenstücke werden geschnitten, aufgeklebt und 24 Stunden im Thermostat auf 38—40° C. in einer sehr starken Lösung von Kupferoxyd gelassen. Sie werden nun sorgfältig mit Wasser ausgewaschen und kommen in eine 1%ige wässerige Hämatoxylinlösung, bis sie intensiv schwarz werden, was etwa 5 Minuten in Anspruch nimmt. Sie kommen in eine $^1/_3$%ige wässerige Salzsäurelösung bis die Schnitte gelb werden und aus dieser in die Kupferlösung zurück, worin sie so lange bleiben, bis sie violettblau werden. Dann werden sie mit destilliertem Wasser abgespült, mit Alkohol behandelt und in Canadabalsam über geführt.

15. Kapitel.

Haut, Haare und sensible Nervenendigungen in der Haut.

[§ 587] Die Haut des Menschen (Affen) mufs der der anderen Säugetiere für die Untersuchung vorgezogen werden. Da diese erst nach vielen Stunden nach dem Tode zur Untersuchung kommt, so ist es ziemlich gleichwertig, wie sie fixiert wird, Müllersche Flüssigkeit, allmählich stärkerer Alkohol. Für die erste Orientierung schneide man in Celloidin.

[§ 588] Epidermiszellen des Stratum corneum können abgeschabt und nach § 268 untersucht werden.

[§ 589] An einer frischen Epidermis, die mit Überosmiumsäure fixiert und geschnitten wurde, differenziert sich das Stratum corneum in drei Schichten: in eine schwarze oberflächliche, eine farblose mittlere und eine schwarze tiefere.

[§ 590] Das Stratum lucidum an in Alkohol, Chromsäure (gut ausgewaschen) und an in Müllerscher Flüssigkeit fixierten Präparaten färbt sich, mit Pikrokarmin gefärbt, gelblich.

[§ 591] Die Körner des Stratum granulosum färben sich mit Karmin (resp. Pikrokarmin), Safranin etc.; es sind die **Keratohyalinkörner** (Eleidintropfen).

Einige Eigenschaften dieser für die Verhornung wichtigen Substanz entnehmen wir den Untersuchungen Waldeyers.

Sie lassen sich intensiv mit Karmin und Hämatoxylin imbibieren. In 1- bis 5%iger Kalilauge quellen die Körner in der Kälte auf und werden dabei hell. In der Wärme lösen sie sich gleichzeitig mit den Zellen, worin sie eingeschlossen sind (Pferdehuf). Durch Ammoniak werden die Körner nicht verändert und man kann dieses Reagens zum Nachweis des Keratohyalins mit Vorteil gebrauchen, da die meisten Gewebe in Ammoniak durchsichtig werden. Salpeter und Salzsäure wirken ähnlich wie Alkalien. In Essigsäure und Eisessig bleiben die Keratohyalinkörner längere Zeit unverändert; da die Essigsäure die übrigen Epithelien rasch zum Quellen bringt und aufhellt, so kann man diese ähnlich wie Ammoniak vorteilhaft zum Nachweis des Keratohyalins benutzen. Das kohlensaure Natron 1%ig macht die gröfseren Schollen durchsichtiger und läfst sie aufquellen. Überhaupt sind die gröfseren Körner weniger widerstandsfähig wie die kleinen. In Alkohol und Äther bleiben die Körner unverändert. In Glycerin-Pepsin-Extrakt lösen sie sich auf.

[§ 592] Die Beziehungen der Riffe der Zellen des Stratum Malpighii (spinosum) zu einander sind an dünnen Schnitten wahrzunehmen.

[§ 593] Will man Zellen der Epidermis, namentlich des Stratum Malpighii isolieren, so empfiehlt sich eine kurze Behandlung mit Trypsin. Frische Epidermis wird in eine wässerige, in der Kälte gesättigte filtrierte Lösung von Pancreatinum siccum auf ein paar Stunden in einem auf 40° gewärmten Raum maceriert. Die so behandelten Stücke können lange Zeit in Glycerin-Wasser-Alkohol zu gleichen

Teilen aufbewahrt werden. Solchen Stücken entnommene Fetzen lassen sich zerzupfen und zeigen sehr instruktive Bilder der Riffzellen (Schifferdecker).

[§ 594] Cutis und die Papillen derselben werden an in Flemmingscher Lösung, Überosmiumsäure und Sublimat (nachfärben mit Boraxkarmin) fixierten Präparaten untersucht. (Die Darstellung der Nervenendapparate in den Papillen siehe § 601). An solchen Schnitten sind die Schweissdrüsen (glatte Muskeln derselben!) gut erhalten (sehr grofs z. B. in der Achselhöhle des Menschen). Das Bindegewebe der Cutis wird nach der im § 331 angegebenen Methode dargestellt.

[§ 595] Für die Darstellung elastischer Elemente der Cutis besitzen wir eine Reihe wohlerprobter Methoden, zu denen vor allem die von Martinotti gehört.

Frische Gewebestücke von 2—3 ccm kommen in eine 2%ige Lösung von Arsensäure auf 24 Stunden; dann auf 5—15 Minuten in Müllersche Flüssigkeit, dann in folgende Lösung: 2 g Silbernitrat werden in 3 ccm destillierten Wassers gelöst und 15—20 ccm reines Glycerin zugefügt. Nach 24 Stunden wird mit destilliertem Wasser gewaschen und in Alkohol gebracht und in diesem geschnitten. Die Schnitte kommen ganz kurz in eine physiologische Kochsalzlösung, dann in absoluten Alkohol, Kreosot, Canadabalsam.

[§ 596] Um nach der Färbung mit der Martinottischen Methode die elastischen Fasern rein schwarz resp. den Grund farblos zu erhalten, empfiehlt Ferria, die Schnitte eine kurze Zeit in Ätzkalilösung zu behandeln, resp. bis 24 Stunden in absolutem Alkohol liegen zu lassen.

[§ 597] Haare von Menschen und Tieren können unmittelbar unter das Mikroskop gebracht und unter Wasser untersucht werden. Die Nager haben eine sehr entwickelte Marksubstanz und bei denselben ist auch das Oberhäutchen prägnant zu sehen. Für das Isolieren der Rinden- und Oberhäutchenzellen empfiehlt sich das Macerieren in Kali- oder Natronlauge.

[§ 598] Für die Untersuchung der **Haare** und deren Scheiden verwende man mit Müllerscher Flüssigkeit oder mit Alkohol fixierte Objekte, welche beliebig gefärbt und so geschnitten werden, dafs die Haare entweder genau quer oder längs (das letztere macht oft Schwierigkeiten) getroffen werden.

[§ 599] Will man aber verschiedene Teile der Haare und der Haarwurzelscheiden in verschiedenen Farben zur Darstellung bringen, so gibt es kaum ein empfehlenswerteres Mittel als die Jndigokarmin-Karmin-Lösung von Norris und Shakespeare (siehe § 248).

Die in dieser Weise tingierten Schnitte liefern folgendes differenziertes Bild. Die äufsere Haarwurzelscheide ist mit Karmin tingiert, die Henlesche Schicht erscheint glänzend hellgrün, die Huxleysche Schicht dunkelblauviolett, das Oberhäutchen der inneren Wurzelscheide und das des Haares sind auch von einander durch Färbungen zu unterscheiden, das letztere ist grünlich. Die Markzellen des Haares färben sich lebhaft mit Karmin.

[§ 600] **Sensible Nervenendigungen der Haut.** Wir beschränken uns auf die Darstellungsweise weniger sensibler Nervenendapparate. Meifsnersche, Herbstsche, Grandrysche, Vater-Pacinische Körper, Nerven der Epidermis und die mit Tastscheiben. Diese haben wir aus der Mehrzahl der vorhandenen herausgegriffen, weil sie leicht zugänglich sind und ohne besondere Schwierigkeiten zur Ansicht gebracht werden können und, weil sie von allen Typen der sensiblen Nervenendigungen eine Vorstellung zu geben geeignet sind.

[§ 601] Die **Meissner'schen Körperchen** sind an beliebig fixierten und tingierten Querschnitten durch die Papillen der Haut an denjenigen Stellen, wo sie zahlreich vorkommen, z. B. an der Volarfläche der Endglieder der Finger ohne weiteres auf jedem Schnitt als quergestrichelte ovale Körper in denselben zu erkennen.

[§ 602] Eine alte, noch immer gute Methode besteht in folgendem: die Haut wird von der Endphalanx der Finger oder Zehe abpräpariert und einige (bis 10) Minuten gekocht. Das Wasser samt dem Hautstück läfst man kalt werden, dann nimmt man es heraus. Es läfst sich nun die Epidermis abziehen; auf dem Cutisstück sieht man mit der Lupe intakte Papillen, die man mit einem Rasiermesser abtragen kann. Diese Papillen werden auf einem Objektträger deponiert, mit einer etwa 3%igen wässerigen Essigsäurelösung behandelt und mit einem Deckglase bedeckt. Nach einer Stunde bereits sieht man in vielen Papillen Meifsnersche Tastkörperchen als ovale quergestreifte Körper und zuweilen sogar den zutretenden Nerv.

[§ 603] Will man die Ausdehnung der Markscheide der zutretenden Nervenfaser kennen lernen, so behandle man das Hautstück mit Osmiumsäure (siehe § 88) und schneide senkrecht auf die Oberfläche der Haut, um die Papillen der Länge nach zu treffen.

[§ 604] Um die Beziehungen der Nervenfibrillen zum Körperchen zu eruieren, vergolde man die Hautstücke nach der im § 415 erwähnten Löwitschen Methode.

[§ 605] Die **Herbst'schen** und **die Grondry'schen Körperchen** kommen in der Wachshaut des Entenschnabels und in den

Gaumenleisten desselben Vogels vor. Sie lassen sich als solche bei beliebiger Fixierung und Färbung erkennen.

[§ **606**] An mit Osmiumsäure behandelten Stücken sieht man den Nerv in Beziehung zu den Körperchen treten, soweit er markhaltig ist.

[§ **607**] Will man die Nerven weiter verfolgen, so greife man zu einer von uns angegebenen, von Carrière empfohlenen Methode: Stücke einer frischen mit dem Rasiermesser abgetragenen Wachshaut (mit Cutis bis zum Periost) kommen in 50%ige Ameisensäure auf 20 Minuten, sie werden mit destilliertem Wasser flüchtig gewaschen und kommen auf ebensolange Zeit (20 Minuten) in eine geringe Menge einer 1%igen Goldchloridlösung. Die Stücke werden abermals einige Sekunden in destilliertem Wasser gewaschen, um in eine grofse Menge (etwa 300 ccm) Prichardscher Lösung übertragen zu werden; (diese besteht aus Amylalkohol 1, Ameisensäure 1, destilliertem Wasser 98); in dieser verbleiben die Stücke im Dunkeln 24 bis 36 Stunden, werden mit Wasser abgespült, mit Alkohol gehärtet und geschnitten.

[§ **608**] Die gröfsten und bekanntesten sind die **Vater-Pacini**schen Körperchen. Die Verbreitung derselben ist eine sehr grofse, wir erwähnen das Mesenterium der Katze als eine Fundgrube für solche; sie sind da mit blofsem Auge wahrzunehmen.

[§ **609**] Die Körperchen lassen im frischen Zustande unter das Mikroskop gebracht, so ziemlich alles erkennen. Man untersuche in einer physiologischen Kochsalzlösung.

[§ **610**] Will man sich überzeugen, dafs die Lamellen aus Endothelzellen zusammengesetzt sind, so versilbere man die Körperchen nach § 277.

[§ **611**] **Nerven der Epidermis.** Nach der Goldmethode (siehe § 415) oder nach der folgenden:

[§ **612**] Stückchen der Haut werden mit einer 1/2%igen Arsensäure angesäuert, sie kommen sodann in eine 1 bis 2%ige Goldchloridlösung und werden schliefslich in eine 1%ige Arsensäure übertragen, wo die Reduktion erfolgt (Goldscheider). (Objekt Tastballen.)

[§ **613**] **Tastscheiben** vom Rüssel des Schweines. Methode von Löwit (siehe § 415) oder nach Bonnet. (§ 614.)

[§ **614**] Bonnet verfährt nach einer modifizierten Weigertschen Methode. Die Hautstücke werden in 1/3%iger Chromsäure gehärtet, geschnitten, mit Hämatoxylin überfärbt und mit alkoholischer Lösung von rotem Blutlaugensalz bis zur scharfen Differenzierung behandelt.

16. Kapitel.

Auge.

[§ 615] Der von Muskeln und lockerem Bindegewebe bis auf die Sclera befreite ganz frische **Augapfel** wird mit Müllerscher Flüssigkeit (siehe § 84) fixiert. Ein Augapfel von der Gröfse des menschlichen darf mindestens 3 Wochen darin belassen werden. Der Bulbus wird dann sorgfältig in fliefsendem Wasser ausgewaschen und in Spiritus von allmählich steigender Koncentration übergeführt. Ist das Auge sehr klein, so kann man es ganz durchfärben und schneiden.

[§ 616] Es ist von einer Paraffindurchtränkung hiebei abzuraten, da Sclera und namentlich die Linse in Paraffin viel zu hart werden. Man durchtränke daher mit Celloidin (siehe § 131). Gröfsere fixierte Augen werden unter Spiritus mit einer scharfen Schere durch einen äquatorialen Schnitt eröffnet, der Glaskörper entfernt und Stücke aus verschiedenen Regionen, die alle Augenhäute enthalten, herausgeschnitten und weiter bearbeitet.

[§ 617] Flemmingsche Flüssigkeit kann ebenfalls als Fixierungsmittel für das ganze Auge empfohlen werden.

[§ 618] Schnitte, welche, durch die ganze Dicke des Auges geführt sind, lassen eine allgemeine Orientierung über die Strukturverhältnisse zu, sind aber nicht geeignet für das Studium feinerer Details, dafür sind speciellere Wege einzuschlagen.

[§ 619] **Corneae** kleinerer Tiere, frisch ausgeschnitten, können in indifferenten Flüssigkeiten oder in der Glaskörperflüssigkeit, die man durch Einstich einer fein ausgezogenen Kapillarröhre in den Augapfel gewinnt, vor Verdunstung geschützt, untersucht werden.

Das vordere Epithel wird an Schnitten, einer mit Müllerscher oder Flemmingscher Lösung behandelten Hornhaut entnommen, studiert.

[§ 620] Als Macerations-Flüssigkeit verwende man $^{1}/_{3}$ Alkohol (siehe § 270).

[§ 621] Das **Descemetische Endothel** kann durch **Versilberung** und nachträgliche Färbung zur Darstellung gebracht werden (siehe § 277).

[§ 622] Die Grundsubstanz der Hornhaut läfst sich nach Maceration in Kalkwasser z. B. (auch übermangansaures Kalium) in Lamellen und Fibrillen zerlegen. Um diese letzteren zur Darstellung an Schnitten zu bringen, empfiehlt es sich sehr, die Cornea zu trocknen, mit dem

Rasiermesser quer zu schneiden, die Schnitte in Wasser wieder aufquellen zu lassen und mit Pikrokarmin zu färben.

[§ 623] Die **Hornhautkörperchen** können in vielfacher Weise untersucht werden. Es wird mit einem Lapisstift die vom vorderen Epithel befreite Hornhaut am lebenden Tiere (Frosch) geätzt. Schneidet man alsdann die Cornea aus und überträgt dieselbe in Wasser, so erscheinen alsbald die Hornhautkörperchen mit Ausläufern hell auf dunklem Grunde: negative Versilberung.

[§ 624] Die dickeren Hornhäute gröfserer Tiere werden ebenso behandelt, müssen jedoch an Flachschnitten, die man mit der Hand anfertigt, studiert werden. Läfst man solche mit Höllenstein behandelte Hornhäute ein paar Tage im Wasser liegen, so entfärbt sich die Grundsubstanz und die Körperchen werden dunkel: positive Bilder.

[§ 625] Leber behandelt die Cornea eines Frosches einige Minuten mit einer ½- bis 1%igen Lösung eines Eisenoxydsalzes; die Hornhaut wird auf einen Augenblick in destilliertes Wasser eingetaucht und kommt sofort in eine 1%ige Lösung von Feridcyankalium. Nach einigen Minuten sind die Hornhautkörperchen, zuweilen in der ganzen Dicke der Cornea, mit ihren Ausläufern gefärbt.

[§ 626] Die Hornhautkörperchen können aber auch durch Vergoldung dargestellt werden, wobei die **Nerven der Cornea** ebenfalls gefärbt werden. (Siehe § 627.)

[§ 627] Speciell für die Hornhaut empfiehlt Ranvier Goldchloridkalium in einer 1%igen Lösung.

Eine Froschhaut kommt auf fünf Minuten in Citronensaft (siehe § 417), dann auf ¼ Stunde in die eben erwähnte Goldlösung, reduziert wird im Lichte in schwach mit Essigsäure (2 Tropfen auf 30 cct.) angesäuertem Wasser 1 bis 2 Tage.

[§ 628] Hornhautkörperchen mit Ausläufern (deren Ausgüsse) können ebenfalls nach der Altmannschen Methode (siehe § 461) dargestellt werden.

[§ 629] Die **Sclera** wird nach den Methoden, die für Bindegewebe (siehe § 323 ff.) angegeben worden sind, behandelt.

[§ 630] Die **Vasculosa** und **Jris** werden am bequemsten an albinotischen Kaninchen studiert. Man unterlasse nicht, die Iris an sehr gut orientierten Objekten flach zu schneiden.

[§ 631] Die Lymphgefäfse der Chorioidea können mit der Altmannschen Methode zur Anschauung gebracht werden.

[§ 632] An pigmentierten Augen versuche man, das Pigment mit Wasserstoffhyperoxyd zu entfernen.

Mit diesem Mittel kann man nach Unna Vielfaches erzielen. Es bleicht alle Pigmente, entfärbt Chromsäure und Osmiumsäureapparate, sowie auch mit Hämatoxylin überfärbte, gegen

Gold- und Silberniederschläge ist es unwirksam, reduciert aber frische Goldchloridpräparate augenblicklich und vollständig; schwache und starke Lösungen wirken, abgesehen vom Zeitunterschied, gleich.

Zu ähnlichen Resultaten ist Solger gekommen. (Duval hat im Jahre 1878 eine ähnliche Bleichmethode als eine alte, von Pouchet angegebene, erwähnt.)

[§ 633] Man kann das Bleichen der Pigmente (und zu dunkel gewordener Osmiumsäurepräparate) mit nascierendem Chlor (P. Mayer) bewerkstelligen. Die zu bleichenden Objekte kommen in ein mit Alkohol gefülltes Glas, auf dessen Boden Krystalle von Kalium chloricum deponiert werden. Es wird nun Salzsäure (bis 1%) zugefügt und das Gefäfs verschlossen.

[§ 634] Als pigmentzerstörendes Mittel hat Cucatti einen Karmin empfohlen, welchen man für Durchfärben gebrauchen kann. Krystallisierte Soda, 20 g in 100 ccm Wasser aufgekocht, wird mit 5 g Karmin versetzt. Nach der Lösung des Karmins werden 30 ccm absoluten Alkohols zugesetzt und nach dem Erkalten filtriert. Das Filtrat wird auf das Vierfache mit einer $^1/_2$%igen Eisessiglösung, die man tropfenweise zusetzt, verdünnt und zum Schlufs 2 g Chloralhydrat zugesetzt. Färbung 24 Stunden. Nachbehandlung mit Alkohol 100, Salzsäure 1. — Löst Eiweifs ab.

[§ 635] Die **Linse** erwachsener Tiere läfst sich, es mag die Vorbehandlung sein, welche sie wolle, schlecht schneiden, in Paraffin gar nicht, am besten in Celloidin.

[§ 636] An mit starker Salpetersäure (bis 30%) macerierten Linsen lassen sich leicht die Linsenfasern isolieren.

[§ 637] **Retinae** gröfserer Tiere sind an in toto behandelten Augen in der Regel mangelhaft fixiert, vermutlich, weil sie sich verändert, bis die fixierende Flüssigkeit durch die Sclera durchdringt. In solchen Fällen mufs die Retina nebst Chorioidea unter Kochsalz rasch nach den bekannten Regeln isoliert und dann fixiert werden, oder das Auge wird durch einen Schnitt (äquatorialen) halbiert, der Glaskörper entfernt und mit fixierender Flüssigkeit behandelt.

[§ 638] Als solche zind zu empfehlen: Müllersche Flüssigkeit (1 bis 2 Wochen lang), Salpetersäure, Flemmingsche Flüssigkeit und vor allem die Osmiumsäure.

[§ 639] Diese wird nach Ranvier folgendermafsen angewandt: Augen kleinerer Tiere, Maus, Triton, Frosch etc. werden herausgenommen, vorsichtig (ohne auf den Bulbus zu drücken), mit Schere von Muskeln etc. befreit und mit Osmiumdämpfen $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde geräuchert (siehe § 90). (Gröfsere Bulbi müssen vor der Räucherung eröffnet und der Glaskörper entfernt werden). Nach der Räucherung ist die Retina genügend fixiert und man kann das Auge unter $^1/_3$ Alkohol durch einen äquatorialen Schnitt eröffnen und in diesem einige (3 bis 4) Stunden belassen. Die

hintere Augenhälfte (mit dem Nerven) wird mit Pikrokarmin einige Stunden gefärbt und aus diesem in 1%ige Osmiumsäurelösung auf 12 Stunden übertragen, worin die definitive Fixierung der Elemente erfolgt. Es wird mit Wasser gewaschen, mit Alkohol behandelt und in Paraffin geschnitten.

[§ **640**] Ist die Sclera zu hart, so kann man sie mit scharfem Messer an mit Paraffin durchtränkten Stücken nach Bedarf entfernen.

[§ **641**] Beim Studium der Retina begnüge man sich nie mit Querschnitten, sondern fertige auch gut orientierte Flachschnitte an. Mit Recht weist W. Krause auf diesen Umstand hin und bemerkt, dafs man an Querschnitten über den Bau der Zwischenkörnerschicht beispielsweise unmöglich zu einer richtigen Vorstellung gelangen kann.

[§ **642**] Als weiteres Fixierungsmittel, das sehr gut die Aufsenglieder konserviert, aber auch bei der Isolation der Stützfasern Gutes leistet, ist die 10%ige Chloralhydrallösung (Krause).

[§ **643**] Die Retinae lassen sich im allgemeinen gut färben und die Mehrfachfärbungen liefern (aufser nach Osmiumsäurebehandlung) farbenreiche Bilder, welche für Demonstrationszwecke z. B. unter Umständen Nutzen bringen.

[§ **644**] Die nervösen Elemente der Retina färbt Dogiel mit der Methylenblaumethode Ehrlichs, indem Methylenblau in das Gefäfssystem eines lebenden oder eben getöteten Tieres eingeführt, oder die Retina direkt auf dem Objektträger mit dem Farbstoffe behandelt wird. Um Schnitte anzufertigen, wird die so behandelte Netzhaut mit einem Gemisch von pikrinsaurem Ammoniak und Chromsäure resp. Alkohol fixiert und gehärtet (siehe § 413 und 440).

[§ **645**] Wenn man den Glaskörper entfernt und die Innenfläche der Retina versilbert, so erhält man deutliche Silberbilder von den Grenzen der Füfschen der Müllerschen Fasern.

[§ **646**] Galle wirkt eigentümlich lösend auf die Aufsenglieder der Stäbchen und Zapfen (Kühne).

17. Kapitel.

Ohr.

[§ **647**] Bei der Behandlung der schallperzipierenden Organe gebricht es beim Anfänger in der Regel an der genauen Kenntnis der Lage derselben innerhalb des Felsenbeins bei den verschiedenen Tieren. Man fange deshalb lieber mit Objekten an, die, ohne genauer makroskopisch zergliedert zu werden, eine Behandlung mit dem (von Weichteilen befreiten) Felsenbeine zulassen. Es liefern solche das Meerschweinchen, die Maus, die Fledermaus.

[§ **648**] Solche Felsenbeine werden in Müllerscher Flüssig-

keit, in Flemmingscher Lösung fixiert und dann eventuell entkalkt.

[§ **649**] Als Entkalkungsflüssigkeit ist eine 3%ige Salpetersäure und gesättigte Pikrinsäurelösung anderen vorzuziehen. Schnecken gröfserer Tiere müssen unter der fixierenden Flüssigkeit eröffnet und dann entkalkt werden. Geschnitten wird in Celloidin.

[§ **650**] Die Schnecke wird nach Retzius eröffnet, eine halbe Stunde mit einer ½%igen Überosmiumsäurelösung fixiert, darauf ebenso lange Zeit mit ½%iger Goldchloridlösung. Es wird nicht weiter entkalkt, sondern das Cortische Organ herauspräpariert und untersucht, oder nach Entfernung von Knochen geschnitten.

[§ **651**] Nach Ranvier eröffnet man die Schnecke mit einem Skalpell unter einem Osmiumsäuregemisch (2% gelöst in physiologischer Kochsalzlösung). Man lasse alsdann dasselbe zwölf Stunden einwirken und entkalke mit einer 2%igen, oft zu wechselnden Chromsäure, Die Entkalkung für Meerschweinchen dauert eine ganze Woche.

[§ **652**] Die Cortische Membran kann nach § 656 behandelt werden (⅓ Alkohol, dann Überosmiumsäure resp. deren Dämpfe siehe § 90).

18. Kapitel.

Nase.

[§ **653**] Um Orientierungspräparate von der **Nasenschleimhaut** zu erlangen, mufs man von z. B. in Flemmingscher Lösung fixierten, natürlich der regio respiratoria sowohl, als der regio olfactoria entnommenen Stücken Querschnitte anfertigen. Es empfiehlt sich, Schleimhautstücke dieser letzten Region in reiner Osmiumsäure (1% siehe § 89) zu fixieren, da die Olfaktoriusfasern und Fibrillen, im Gegensatz zu den Remakschen Fasern (siehe § 411) sich mit Osmiumsäure bräunen.

[§ **654**] Epithelien der regio respiratoria werden mit ⅓ Alkohol (siehe § 270) isoliert.

[§ **655**] Epithelien der regio olfactoria lassen sich ebenfalls in ⅓ Alkohol macerieren, die isolierten Sinneszellen aber, die sehr lang sind, verkrümmen sich und werden sonst vielfach verändert.

[§ **656**] Um diesen Mifsständen aus dem Wege zu gehen, empfiehlt Ranvier ein ebenso einfaches als vorzügliches Mittel. Epithelfetzen werden 1 bis 2 Stunden mit ⅓ Alkohol maceriert, dann fünf Minuten bis eine Viertelstunde mit Osmiumsäure behandelt. Jetzt kann im Wasser gezupft werden, die Zellen behalten ihre Form und können in Glycerin eingeschlossen werden.

Register.

A.

B.

F.

G.

S.

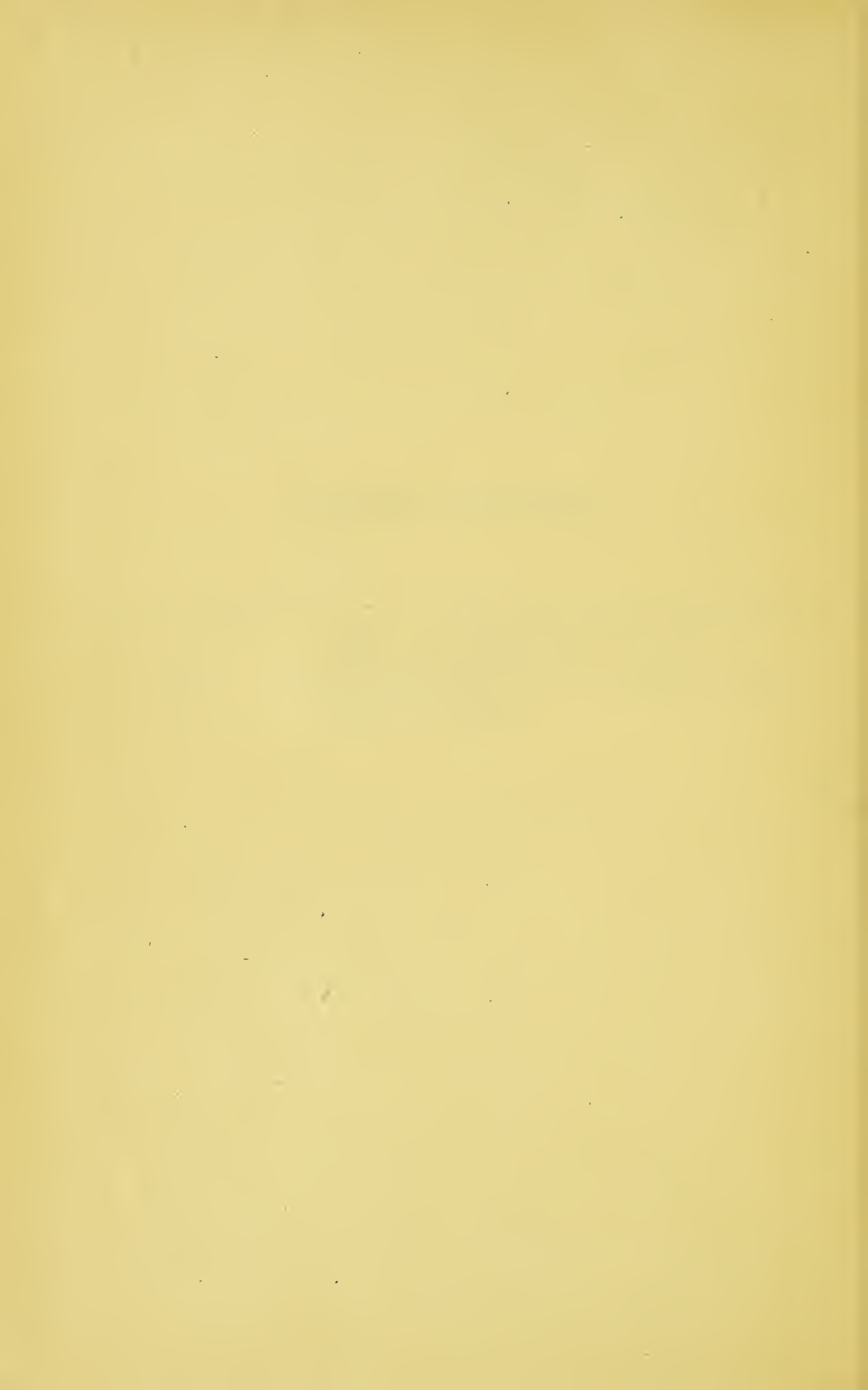
T.



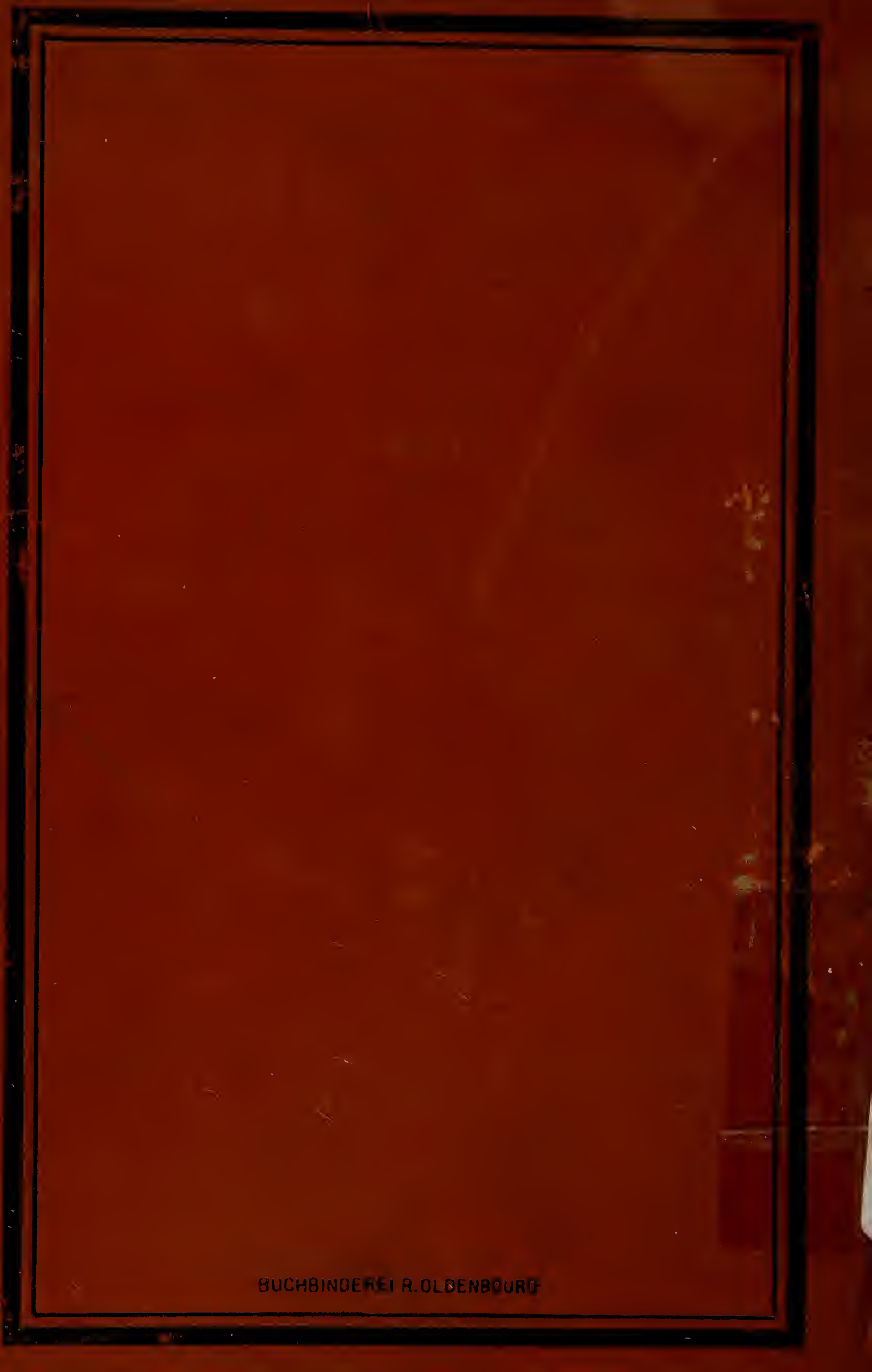
Druckfehler-Berichtigung.

Seite 10 Zeile 12 v. oben lies: „alle parallel auffallenden Strahlen“ statt — alle auffallenden Strahlen.
„ 58 „ 9 v. oben lies: „400 ccm“ statt — 40 ccm.
„ 77 „ 17/18 v. unten lies: „Hämin = salzsaures“ statt — Hämin — salzsaures.








BUCHBINDEREI R. OLDENBOURG